



UNIVERSIDAD NACIONAL

"PEDRO RUIZ GALLO"

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**"DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DILUCIÓN
Y TIEMPO DE FERMENTACIÓN PARA OBTENER UNA
BEBIDA ALCOHÓLICA UTILIZANDO HARINA DE
ALGARROBA (*Prosopis pallida*)"**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PRESENTADO POR:

Bach. LOCONI SERQUÉN MILAGROS LISBET

Bach. SILVA GUEVARA EDWIN WINSTON

ASESORADO POR:

Ing. Mg. NOEMÍ LEÓN ROQUE

LAMBAYEQUE - PERÚ

2014



**UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUIZ GALLO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



TESIS:

**“DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DILUCIÓN Y TIEMPO DE
FERMENTACIÓN PARA OBTENER UNA BEBIDA ALCOHÓLICA UTILIZANDO
HARINA DE ALGARROBA (*Prosopis pallida*)”**

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

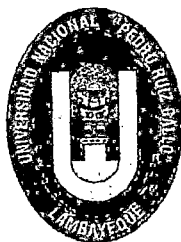
PRESENTADO POR LOS:

**Bachilleres: LOCONI SERQUÉN MILAGROS LISBET
SILVA GUEVARA EDWIN WINSTON**

ASESORADO POR

Ing. Mg. NOEMÍ LEÓN ROQUE.

**LAMBAYEQUE - PERÚ
2014**



UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUIZ GALLO



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

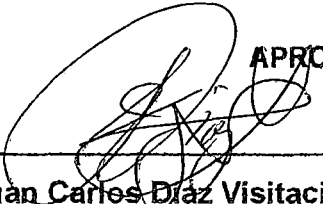
TESIS

"DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DILUCIÓN Y TIEMPO DE
FERMENTACIÓN PARA OBTENER UNA BEBIDA ALCOHÓLICA UTILIZANDO
HARINA DE ALGARROBA (*Prosopis pallida*)"

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

APROBADO POR:


Ing. Juan Carlos Díaz Visitación

PRESIDENTE


Ing. Carmen Annabella Campos Salazar

SECRETARIA


Ing. Juan Francisco Robles Ruiz

VOCAL


Ing. Mg. Noemí León Roque.

ASESORA

LAMBAYEQUE - PERÚ

2014

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos. Tengo la certeza de que fuiste Tú, quien permitió que la sabiduría dirija y guíe mis pasos, fuiste Tú quien iluminó mi sendero cuando sentía que la oscuridad me envolvía y fuiste siempre Tú el que me dio la fortaleza para levantarme mil veces sin suspírar y continuar.

A mis padres, Miguel y Cecilia, porque creyeron en mí y sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, y el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí. A mis hermanos, tíos, y amigos. Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles. A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional

Winston

DEDICATORIA

A mis queridos padres, María y Gumerciendo, porque gracias a la generosidad de su amor, esfuerzo y sabios consejos me guiaron por el buen camino y permitieron progresar y ser una buena profesional.

Para Tomasa, José y Félix aquellas personas que mientras estuvieron en esta vida me apoyaron y vivieron conmigo mis aciertos y desaciertos, porque sus muestras de amor me dieron fuerza para levantarme y luchar cada día.

A Dios, quien siempre está atento en mí caminar, porque desde el cielo guía mis pasos, me dio fortaleza para lograr mi más grande anhelo: ser ingeniero

Milagros

AGRADECIMIENTO

Siempre estaremos agradecidos con Dios, por darnos la vida para llegar a alcanzar esta meta, esta vida llena de alegrías y tristezas, que nos hicieron comprender que para llegar lejos siempre hay que luchar ante cualquier adversidad que se nos presente.

A la Universidad "Pedro Ruiz Gallo", por abrir sus puertas a la superación de la juventud lambayecana, ávidas de alcanzar la meta de ser profesional.

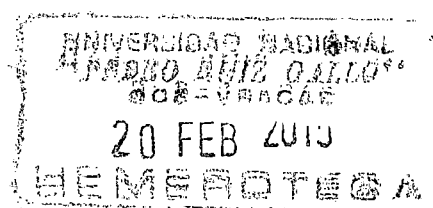
A nuestros padres quienes día a día se encargaron de forjar el placer cotidiano de vivir, sería difícil imaginar nuestro caminar sin recordar toda su comprensión y su inmenso amor

Así también es imprescindible agradecer a quien ha venido guiándonos desde hace tiempo en nuestra formación no solamente académica, sino personal dándonos la oportunidad de ver en la ciencia esa combinación de sencillez y complejidad que la hacen tornarse cada vez más interesante. Gracias Mg. Noemí León Roque.

Los Autores

**“Determinación de los parámetros de dilución y tiempo de fermentación
para obtener una bebida alcohólica utilizando harina de algarroba
(*Prosopis pallida*)”**

INDICE GENERAL



DEDICATORIA.....	4
AGRADECIMIENTO	5
INDICE GENERAL.....	7
INDICE DE TABLAS.....	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
RESUMEN.....	14
ABSTRACT.....	16
I. INTRODUCCION.....	17
II. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	19
2.1. ALGARROBO (<i>Prosopis pallida</i>).....	19
2.1.1 Generalidades	19
2.1.2 Origen.....	20
2.1.3 Clasificación taxonómica	21
2.1.4 Distribución	21
2.1.5 Morfología	21
2.1.6 Estructura del fruto de <i>Prosopis pallida</i>	23
2.1.7 Factores Antinutricionales.....	25
2.1.8 Cosecha y rendimiento.....	26
2.1.9 Suelo	27
2.1.10 Cultivo	27
2.1.11 Preparaciones tradicionales con algarroba.....	28
2.1.12 Procesamiento para obtener nuevos productos.....	33
2.2. HARINA DE ALGARROBO (<i>Prosopis pallida</i>).....	35
2.2.1. Conceptos Generales.....	35
2.2.2. Obtención de la harina de algarroba	36
2.2.3. Valor Nutricional de la Harina de Algarroba	38
2.3. FERMENTACIÓN.....	40
2.3.1 Definición.....	40
2.3.2 Conceptos básicos.....	41
2.3.3 Factores que intervienen en el proceso de fermentación.....	43
2.3.4 Fermentación alcohólica.....	48
2.3.4.1 Fermentación batch:	50
2.3.4.2 Fermentación Continua:	50
2.3.4.3 Fermentación lote alimentado:.....	51
2.3.5 Proceso Bioquímico de la Fermentación Alcohólica.....	51
2.3.6 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	53

2.4.	EVALUACIÓN SENSORIAL.....	55
2.4.1	Concepto General.....	55
2.4.2	Los cinco sentidos de la Evaluación Sensorial.....	57
2.4.3	Tipos de Análisis.....	58
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	61
3.2.	MATERIA PRIMA E INSUMOS.....	61
3.2.1.	Materia Prima:.....	61
3.2.2.	Material Biológico:.....	61
3.3.	MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.....	61
3.3.1	Materiales.....	61
3.3.2	Utensilios:.....	62
3.3.3	Reactivos químicos:.....	62
3.3.4	Equipos e instrumentos:.....	62
3.4.	MÉTODOS.....	63
3.4.1	Análisis de la materia prima:.....	63
3.4.2	Diagrama de bloques para la elaboración de la harina de algarroba.....	65
3.4.3	Elaboración de la harina de algarroba para la fermentación.....	65
3.4.4	Análisis fisicoquímico de la harina elaborada.....	67
3.5.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN.....	67
3.5.1	Diseño experimental.....	67
3.5.2	Análisis estadístico de los datos.....	68
3.5.3	Rendimiento de la materia prima.....	70
3.5.4	Formulación de los tratamientos.....	70
3.5.5	Evaluación de los tratamientos.....	73
3.5.6	Selección de jueces.....	74
3.5.7	Preparación de la muestra.....	75
3.5.8	Codificación de las muestras.....	75
3.5.9	Ejecución de la evaluación sensorial.....	76
3.5.10	Evaluación de los resultados del análisis.....	77
3.5.11	Análisis fisicoquímico para el producto final.....	77
3.5.12	Análisis microbiológico del producto final.....	77
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES:.....	78
4.1.	Caracterización fisicoquímica de las vainas de algarroba secas:.....	78
4.2.	Caracterización de la harina de algarroba.....	79
4.3.	Características fisicoquímicas de los extractos obtenidos.....	80
4.4.	Variación de la concentración de azúcar con respecto al tiempo en la fermentación final.....	81

4.5.	Variación del pH en la fermentación final.....	82
4.6.	Variación del contenido alcohólico en la fermentación final.	84
4.7.	Resultado de la evaluación sensorial de los tratamientos.....	85
4.8.	Análisis organoléptico y fisicoquímico del tratamiento elegido.	90
4.9.	Análisis Microbiológico del tratamiento elegido.	91
V.	CONCLUSIONES.....	92
VI.	RECOMENDACIONES:.....	94
VII.	BIBLIOGRAFIA:.....	95

INDICE DE TABLAS:

Tabla 1: Composición química del fruto del algarrobo	23
Tabla 2: Composición de la pulpa de <i>Prosopis pallida</i>	23
Tabla 3: Composición de endocarpio de <i>Prosopis pallida</i>	25
Tabla 4: Composición de aminoácidos en el cotiledón de semillas de <i>Prosopis pallida</i>	25
Tabla 5: Características generales de las áreas de crecimiento de <i>Prosopis alba</i> y <i>pallida</i>	27
Tabla 6: Análisis Proximal de la harina de algarrobo	39
Tabla 7: Clasificación taxonómica de la levadura	53
Tabla 8: Características generales de la levadura	54
Tabla 9: Esquema experimental de la investigación.	69
Tabla 10: Escala hedónica de 5 puntos para la calificación de las muestras.	74
Tabla 11: Diagrama de bloques de la evaluación sensorial.	75
Tabla 12: Composición fisicoquímica de la algarroba en base húmeda y base seca utilizada en la fermentación.	78
Tabla 13: Caracterización química de la harina obtenida	79
Tabla 14: Rendimiento en el proceso de obtención de la harina de algarroba.	79
Tabla 15: Características fisicoquímicas de los extractos obtenidos en las diferentes diluciones.	80
Tabla 16: Concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación final.	81
Tabla 17: Variación del pH en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación	82
Tabla 18: Variación del grado alcohólico promedio en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.	84
Tabla 19: Resultados de la evaluación sensorial para el olor	86
Tabla 20: Análisis de varianza para el atributo olor	86
Tabla 21: Ordenamiento de medias para el olor.	86
Tabla 22: Diferencias De Medias para el olor	87
Tabla 23: Resultados de la evaluación sensorial para el color	87
Tabla 24: Análisis de varianza para el atributo color	87
Tabla 25: Ordenamiento de medias para el color.	88
Tabla 26: Diferencias De Medias para el color	88
Tabla 27: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor	88
Tabla 28: Análisis de varianza para el atributo sabor	89

Tabla 29: Ordenamiento de medias para el sabor.	89
Tabla 30: Diferencias De Medias para el atributo Sabor.....	89
Tabla 31: Resultados de la evaluación sensorial para los tres atributos (olor , color y sabor).....	90
Tabla 32: Características fisicoquímicas de los extractos obtenidos en las diferentes diluciones.	120
Tabla 33: Concentración de azúcar de las tres repeticiones con respecto al tiempo de fermentación final.	121
Tabla 34: Variación del pH en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.....	124
Tabla 35: Variación del grado alcohólico en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.....	127
Tabla 36: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.....	130
Tabla 37: Análisis de varianza para el atributo del olor.	130
Tabla 38: Ordenamiento de medias para el olor.	131
Tabla 39: Resultados de la evaluación sensorial para el color.	132
Tabla 40: Análisis de varianza para el atributo color.	132
Tabla 41: Ordenamiento de medias para el color.	133
Tabla 42: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.....	134
Tabla 43: Análisis de varianza para el atributo sabor.....	134
Tabla 44: Ordenamiento de medias para el sabor.	135
Tabla 45: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.....	136
Tabla 46: Análisis de varianza para el atributo olor.....	136
Tabla 47: Ordenamiento de medias para el olor.	137
Tabla 48: Resultados de la evaluación sensorial para el color.....	138
Tabla 49: Análisis de varianza para el atributo color.....	138
Tabla 50: Ordenamiento de medias para el color.	139
Tabla 51: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.....	140
Tabla 52: Análisis de varianza para el atributo sabor.....	140
Tabla 53: Ordenamiento de medias para el sabor.	141
Tabla 54: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.....	142
Tabla 55: Análisis de varianza para el atributo olor.....	142
Tabla 56: Ordenamiento de medias para el olor.	143
Tabla 57: Resultados de la evaluación sensorial para el color.....	144
Tabla 58: Análisis de varianza para el atributo color.....	144
Tabla 59: Ordenamiento de medias para el color.	145
Tabla 60: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.....	146

Tabla 61: Análisis de varianza para el atributo sabor.....	146
Tabla 62: Ordenamiento de medias para el sabor.	147
Tabla 63: Tabla estadística F para 0.05.....	154

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1: Árbol de <i>Prosopis pallida</i>	20
Figura 2: Partes de la vaina de algarroba madura.....	23
Figura 3: Cosecha de Algarrobo.....	26
Figura 4: Patay de <i>Prosopis alba</i>	28
Figura 5: Algarrobina y café de algarroba.....	30
Figura 6: Productos que se pueden obtener a partir del procesamiento del fruto del Algarrobo.	34
Figura 7: Trilladora de martillo.	34
Figura 8: Harina de Algarrobo.....	39
Figura 11: Conversión del Piruvato a Etanol	53
Figura 12: Diagrama de bloques para la obtención de harina de algarroba.	65
Figura 13: Diagrama del diseño experimental.	67
Figura 14: Diagrama de flujo para la obtención de bebida fermentada de algarroba a partir de harina.....	72
Figura 15: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación (Promedio).	81
Figura 16: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación (Promedio).	83
Figura 17: Variación del grado alcohólico promedio en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.....	84
Figura 18: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:3	122
Figura 19: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:4	122
Figura 20: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:5	123
Figura 21: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:3	125
Figura 22: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:4	125
Figura 23: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:5	126
Figura 24: Comportamiento del grado alcohólico con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:3.....	128
Figura 25: Comportamiento del grado alcohólico con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:4.....	128
Figura 26: Comportamiento del grado alcohólico con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:5.....	129
Figura 27: Molienda de las vainas de algarroba para obtener Harina.....	148
Figura 28: Tamizado de la Harina.	149
Figura 29: Dilución de la Harina para la extracción de la sacarosa.....	150
Figura 30: Filtración.....	150
Figura 31: Fermentación:	151
Figura 32: Determinación de Sólidos Solubles.....	151
Figura 33: Determinación de pH.....	152
Figura 34: Determinación de densidad.....	152
Figura 35: Determinación del Grado Alcohólico.....	153

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar los parámetros de dilución y tiempo de fermentación para obtener bebida alcohólica utilizando harina de algarroba (*Prosopis pallida*), realizándose el análisis fisicoquímico de las vainas del algarrobo y de la harina obtenida a partir de ellas.

Se acondicionó la harina de algarrobo para su fermentación en relación harina de algarroba/agua en tres niveles de dilución: $(1/3(D_1))$; $1/4 (D_2)$; $1/5(D_3)$ y tres niveles de tiempos (24h (t_1), 48h (t_2), y 72h (t_3)). El método de fermentación utilizado es el batch o fermentación discontinua, se considera como un sistema cerrado, donde al tiempo 0, se inoculó con microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*) y se permite que se lleve a cabo la fermentación en condiciones óptimas de temperatura. A lo largo de la fermentación, no se añade nada, el diseño bifactorial fue de 3×3 haciendo un total de 9 tratamientos, las cuales se dividieron en 3 evaluaciones, las bebidas alcohólicas se almacenaron durante 4 meses y posteriormente se realizó el análisis sensorial, el método usado fue la escala hedónica de 5 puntos, utilizando 15 panelistas semientrenados, asimismo cada juez para cada tratamiento evaluó atributos de color, olor y sabor.

Los resultados se sometieron a un análisis estadístico a un nivel de significancia de 5%, encontrándose diferencia significativa entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de Tukey, demostrando que la segunda evaluación fue la que tuvo mayor respuestas de significancias en los atributos estudiados, es así que se decidió elegir al tratamiento D_2t_1 (Dilución $1/4$, tiempo de fermentación 24 horas), ya que logró el mayor puntaje de aceptación por parte del panel de degustación.

Encontrado el mejor tratamiento se le realizó a la bebida alcohólica el análisis fisicoquímico, obteniéndose 12.20 °Brix, 4.16 pH, 1.03176 de densidad, 79.8 % de humedad, 3.99 % proteínas, 0.3 % de grasa, 14.96 % de carbohidratos, 0.95% de cenizas, 78.50 Kcal/100ml de bebida alcohólica, además se obtuvo 4.37 en grados alcohólicos, con sabor dulce ácido, color oscuro, olor característico aspecto homogéneo y consistencia fluida

Finalmente se realizó el examen microbiológico la cual se determinó ausencia de bacterias Coliformes Termotolerantes, Totales, Salmonella, Shigella, E. Coli, aunque se contabilizo 40 UFC/ml de BMV (Bacterias mesófilas viables en la dilución 10^{-2}), según los datos obtenidos los microorganismos presentes son conformantes de la microbiota habitual de sustratos alcohólicos, no presenta riesgo alguno y es apto para el consumo humano.

ABSTRACT

The present study aimed to determine the parameters of dilution and fermentation time for an alcoholic beverage using carob flour (*Prosopis pallida*), performing the physicochemical analysis of carob pods and flour obtained from them.

Carob flour for fermentation in carob flour ratio / water on three levels was conditioned dilution ($1/3$ (D_1), fourth (D_2), fifth (D_3)) and three levels of time (24h (t_1), 48h (t_2), and 72h (t_3)). The method used is the batch fermentation and batch fermentation, it is considered as a closed system where the time 0, inoculated with micro-organisms (*Saccharomyces cerevisiae*) and is allowed to perform the optimum fermentation temperature. During the fermentation, no other additions except oxygen (as air), the two-factor was 3×3 design for a total of 9 treatments, which were divided into 3 evaluation, alcoholic beverages were stored for 4 months later sensory analysis was performed, the method used was 5-point hedonic scale, using 15 semi-trained panelists also each judge for each treatment evaluated attributes color, smell and taste.

The results were subjected to statistical analysis at a level of significance of 5%, a significant difference was found between treatments, we proceeded to perform the Tukey test, showing that the second assessment was that had the most responses on the attributes studied significances, so it was decided to choose the treatment D_2t_1 ($1/4$ dilution, fermentation time 24 hours), as it achieved the highest score of acceptance by the taste panel.

Found the best treatment was performed to the alcoholic beverage physicochemical analysis, yielding 12.2 Brix, pH 4.16, 1.03176 density, 79.8% moisture, 3.99% protein, 0.3% fat, 14.96% carbohydrate, 0.95% ash, 78.50 kcal / 100ml the alcoholic beverage

Finally microbiological examination which Thermotolerant absence of bacteria Coliform, Total, Salmonella, Shigella, *E. coli* was determined, although it accounted for 40 CFU / ml BMV (viable mesophilic bacteria in dilution 10^{-2}) was performed, according to data microorganisms are obtained in the usual conforming microbiota of alcoholic substrates, without risk and is suitable for human consumption.

I. INTRODUCCION

El fruto del algarrobo se divide en tres partes: pulpa, semilla y endocarpio. La pulpa representa el 56% del fruto y contiene un 60% de azúcares, de los cuales, el 96% es sacarosa (Grados y Cruz, 1994; Bravo *et al.*, 1994). Son los azúcares naturales de la algarroba los componentes mayoritarios contenidos en sus alimentos derivados, Hutkins (2006) como la tradicional algarrobina, la harina de algarroba y la bebida alcohólica objetivo del presente proyecto. Se cuenta con estudios de caracterización químico-nutricional del fruto y sus distintas partes, así como de tecnologías para producir “nuevos” derivados alimenticios (harinas, sucedáneo de café, polvo soluble, alcohol y proteína unicelular) (Cruz, 2002; Clavijo, 1991).

Los frutos de *Prosopis* se han utilizado en muchos lugares también para preparar bebidas fermentadas; Bibar (1558, citado por Roig, 1993b) relata que en el valle de Atacama (Chile) hacían una bebida fermentada con algarroba molida cocida en agua. El Abate Americano (1787, citado por Roig, 1993b) describe el uso de *P. chilensis* en la elaboración de una bebida llamada “aloja”, a partir de una infusión de las algarrobas en agua, dejada fermentar naturalmente y decantar. Burkart (1992) explica el proceso de preparación de la “aloja” en Salta (Argentina): “se machacan las algarrobas (*Prosopis alba*) en un mortero y se colocan en una tinaja agregándole agua. Se tapa y se deja fermentar. A las 24 h, comienza ya la formación de burbujas. A las 48 h, se saca la parte sólida estrujándola entre las manos bien limpias y se agrega una mayor cantidad de algarroba. La proporción definitiva es: algarroba molida, 1 parte; agua, 4 partes. En cuanto a la levadura de la “aloja” es probablemente un *Saccharomyces* de alta fermentación. Está siempre acompañada por gran cantidad de bacterias, especialmente fermentos lácticos, y por hongos. El inconveniente para la difusión de esta bebida es que no se conserva, sino que debe tomarse enseguida. Por su gusto agradable, acidulado, se compara ventajosamente con otras bebidas alcohólicas similares”.

La harina de algarroba se obtiene a partir de la molienda de las vainas, utilizando los tamices adecuados, Grados y Cruz. (1994). Este derivado de la algarroba se ha empezado a comercializar para ser usado como ingrediente de galletas, productos de panificación.

Los procesos para la producción de la bebida alcohólica a partir de la harina de algarroba han sido estudiados en función de los parámetros de dilución y tiempos de fermentación requeridos para la obtención de dicha bebida. Por otro lado, dicho producto es actualmente sujeto de normalización por parte de un comité encargado.

En el desarrollo del presente proyecto de investigación se pretende dar valor agregado a productos autóctonos de la región como es el caso de la algarroba que es sin duda una leguminosa con un alto porcentaje de sacarosa (46.1%), como nos menciona (Cruz, 2002). Además porque es un recurso abundante que no es aprovechado, se estima que hay 200,000 Ton de algarroba disponible cada año, pero solo 12,000 Ton de algarroba es comercializada (INRENA, 2009), perdiéndose el resto en el campo y destinada para el consumo del ganado.

Por lo expresado, la investigación tuvo los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar los parámetros de dilución y tiempo de fermentación para obtener una bebida alcohólica utilizando harina de algarroba (*Prosopis pallida*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Caracterizar fisicoquímicamente las vainas y la harina de algarroba a utilizar.
- Determinar los parámetros de dilución, tiempo de fermentación durante el proceso de elaboración de una bebida alcohólica
- Evaluar las características sensoriales de la bebida alcohólica utilizando el método de Tukey.
- Caracterizar fisicoquímicamente el producto obtenido.
- Determinar la carga microbiana del producto terminado.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. ALGARROBO (*Prosopis pallida*)

2.1.1 Generalidades

Todas las especies de *Prosopis* son leguminosas arbóreas o arbustivas que presentan gran resistencia a la sequía y a la salinidad, y tienen alta capacidad de fijar nitrógeno. Sus frutos son legumbres con alto contenido de proteínas e hidratos de carbono, que varían en tamaño, color y características químicas, según la especie. Esto hace que su cultivo sea recomendado con una doble finalidad: detener el avance de la desertificación y erosión del suelo en zonas áridas y semiáridas, y utilizar sus frutos para alimentación humana y animal en países en desarrollo (Fagg y Stewart, 1994).

Del género *Prosopis* se conocen 44 especies en todo el mundo, distribuidas por América (40), sudoeste de Asia (3), y África (1). (Roig, b 1993).

Formas del *Prosopis pallida* en Lambayeque:

- *Prosopis pallida* forma *armata*: Esta variedad es conocida como "Algarrobo" o "Guarango". Lo que diferencia a esta especie de las demás son las espinas que presentan sus ramas, las cuales sirven como defensa contra la depredación de animales herbívoros. Es natural de la costa septentrional del Perú (Sullana, Paíta, Los Órganos, Piura, Sechura) pero también se han encontrado en el sur de Ecuador.
- *Prosopis pallida* forma *decumbens*: Esta variedad es conocida como "Algarrobo achaparrado"; "Algarrobo". Tiene una ramificación densa y decumbente. Durante el fructificación produce gran cantidad de vainas de algarroba que cuelgan de sus ramas gravitando hacia el suelo. Esta variedad se ha encontrado en la costa norte peruana (Piura, Sullana y Sechura). Los nativos usan en el lenguaje vernacular el término "achaparrado" o "Algarrobo achaparrado".
- *Prosopis pallida* forma *annularis*: Esta variedad es conocida como de herradura de sus frutos. Esta variedad se puede encontrar en la costa norte peruana.

Según un estudio reciente de Mom *et al* 2002, se ha determinado que existen en la región (Piura, Lambayeque y Tumbes), dos entidades biológicas que corresponden completamente con *Prosopis pallida* y *Prosopis limensis*, motivo por el cual el estudio mencionado sostiene que deben considerarse estas especies como diferentes y no sinónimas.

El *Prosopis limensis* a diferencia del *Prosopis pallida* posee mayor número de hojas por lo que su sombra es más densa, además sus frutos son más largos y anchos.

Figura 1: Árbol de *Prosopis pallida*



Fuente: Roig, 1993 a

2.1.2 Origen

P. pallida es originario de las zonas costeras áridas de Perú, Colombia y Ecuador, crece en las partes más secas de estos países, a lo largo de la costa del Pacífico. Los ídolos precolombinos tallados de madera de algarrobo que hallará el sabio Raymondi en el Perú, conducen a pensar que el algarrobo era conocido y utilizado desde los tiempos prehispánicos. Algarrobo es el nombre más usado para los árboles de *Prosopis* en Sudamérica y sus frutos o vainas son llamados algarrobas. El nombre algarrobo es también usado en España para el árbol *Ceratonia siliqua*, lo cual a veces causa confusión. Los españoles dieron al *P. pallida* el mismo nombre cuando arribaron a Perú en 1532, debido a la semejanza de sus frutos (Cruz, 2002).

2.1.3 Clasificación taxonómica

Según Celis (1995) y Harris et al (2003)

Reino: Plantae

División: Fanerógama Magnoliophyta

Clase: Dicotiledónea Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Mimosoideae

Género: Prosopis

Especie: *Prosopis pallida* (H. et Bonpl. ex Willd.) H.B.K.

Nombre Común: "Algarrobo" (Costa Norte y Central del Perú), "Huarango" (Departamento de Ica), "Algarrobo americano" (Puerto Rico), "Kiawe" (Hawai).

2.1.4 Distribución

A. Distribución mundial

P. pallida es originario de las zonas costeras áridas de Perú, Colombia y Ecuador. En los últimos 200 años la especie ha sido introducida en varios países y hoy en día es cultivada y se ha asilvestrado en lugares tales como Bolivia, Puerto Rico, Hawái, Brasil, Sudáfrica, Pakistán, India, Australia y el territorio del Sahara, en parte como maleza invasora (Harris, et al , 2003).

B. Distribución en el Perú

La ocurrencia de *P. pallida* en Perú fue documentada para 13 departamentos, desde Tacna a Tumbes, principalmente en la zonas costeras de 0 - 1500 msnm (Brako y Zarucchi, 2003); sin embargo, parece estar restringida a la región centro-norte del país, desde Ancash hasta Tumbes, incluyendo Amazonas (Burghardt, et al 2010 y Mom, et al 2002).

Sin embargo la especie *prosopis pallida* está presente en los valles de Tacna, Arequipa, Nazca, Ica, Casma, Viru, Moche, Chicama, Jequetepeque, Chaman, Zaña, Chancay, La Leche, Olmos, Piura, Chira, Fernández, Bocapán, Tumbes, Zarumilla.

2.1.5 Morfología

Según Celis (1995) y Harris *et al.* (2003)

A. Tronco y ramas

El tronco tiene una corteza agrietada y de color marrón gris, mientras que las ramas y ramillas son de superficie lisa y verdosa; la madera en su parte externa es de color blanco cremoso, la parte central de color marrón oscuro-vinoso.

Las primeras ramificaciones se originan a 10cm del suelo o a los 1.50 m; el tronco puede tener 60 a 80 cm de diámetro, pudiendo llegar hasta los 2 m en individuos muy viejos.

Los algarrobos tienen alturas de 10 a 20 metros. En cada nudo hay de 1 a 2 espinas opuestas y miden de 1 a 4 cm de longitud, hay variedad sin espinas.

B. Hojas

Cada hoja tiene una especie de palito o peciolo que sostiene de 4 u 8 peciolo más pequeños, en el extremo de estos se unen laminillas denominadas foliolos que miden en promedio de 8 a 15 mm de longitud por 3 a 5 mm de ancho, técnicamente el conjunto recibe el nombre de hojas compuestas.

C. Flor

Son de color amarillo verdosas miden de 2 a 3 mm de longitud, reunidas en racimos de 300 flores en promedio. Se pueden encontrar flores, frutas verdes y frutas maduras al mismo tiempo en un mismo árbol. La floración puede ser variable como en el valle Chancay (Perú), donde se ubica la ciudad de Chiclayo, la floración se inicia en octubre y termina en diciembre. Hay una segunda floración de mayo a junio llamada sanjuanera, pero es de poco volumen.

D. Frutos (Algarroba).

Los frutos carnosos y dulces no se abren para soltar sus semillas. Los frutos son alargados y comprimidos, rectos o algo curvados, miden de 16 a 28 cm de largo por 14 a 18 mm de ancho y de 6 a 10 mm de espesor, terminando al extremo en una especie de pico. Los frutos de color amarillo paja o amarillo marrón, se estima en tres meses el tiempo transcurrido entre la floración y la fructificación. La producción mayor de frutos corresponde a los meses de enero y febrero; hay una segunda

fructificación de menor cantidad entre julio y agosto; en Perú la fructificación se presenta de diciembre a marzo, en Chile de febrero a abril (Celis, 1995, Harris *et al* 2003).

Tabla 1: Composición química del fruto del algarrobo

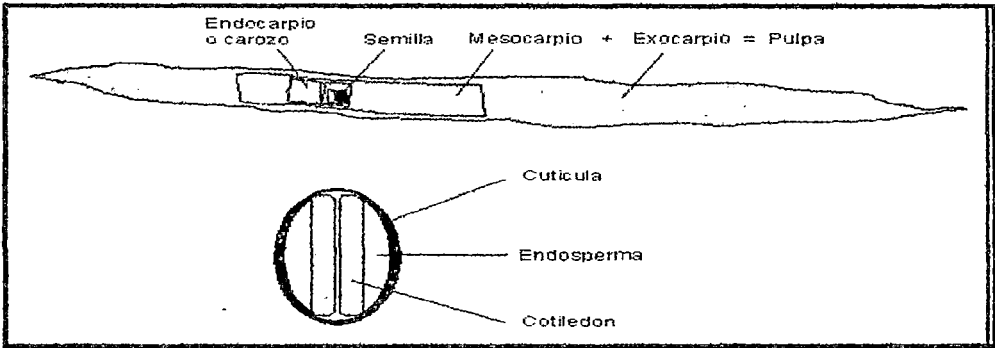
Componentes /components	g/100 g (base humedad) /fresh weight
Humedad /Humidity	14.1
Materia seca/DryMatter	85.9
*Proteínas / Proteints	7.8
Grasa / Fats	0.88
Ceniza/ Ash	3.36
Carbohidratos / carbohidrats	56.06
Azucares totales / total sugars	33.50
Azucares reductores / reducing sugars	4.11

*Constante: 6.25
Fuente: Brako y Zarucchi (2003).

2.1.6 Estructura del fruto de *Prosopis pallida*

El fruto de la algarroba está constituido por una legumbre alargada de color verde que posteriormente cuando está madura toma el color amarillo pardo. Es multiseminada, encorvada e indehiscente, su forma, tamaño, espesor y peso es variado.

Figura 2: Partes de la vaina de algarroba madura



Fuente: Roig (1993a).
A. Exocarpio, Mesocarpio (Pulpa)

Tabla 2: Composición de la pulpa de *Prosopis pallida*

Pulpa de <i>Prosopis pallida</i>		
Componentes principales	(g/100g base seca.)	(g/100g base húmeda)
Azúcares solubles totales	48.5	48,49 ± 2.56
Sacarosa	46.1	46.35
Fructosa	1.26	
Glucosa	1.02	
Xilosa	0.27	
Fibra dietética total	32.2	32.22 ± 0.82
Fibra dietética soluble	1.6	
Fibra dietética insoluble	30.6	
Proteína (N*6.25)	8.1	8.11 ± 0.80
Suma de aminoácidos	7.1	
Proteína resistente	2.2	
Grasa	0.77	0.77 ± 0.12
Cenizas	3.6	3.60 ± 0.17
Taninos condensados	0.41	0.41 ± 0.03
Polifenoles solubles totales	0.81	0.82 ± 0.01

Fuente: Cruz (2002); Grados y Cruz (1994)

La pulpa representa aproximadamente el 56% del peso total del fruto (Cruz, 2002). En Perú se han realizado varios estudios para determinar, lo más completamente posible, la composición química de la pulpa de *P. pallida* (Bravo *et al.*, 1994; Grados y Cruz, 1994; Salazar, 1993); los resultados se resumen en el Tabla 2.

El mayor componente de la pulpa es sacarosa (46,1%), y representa cerca del 90% del total de azúcares solubles.

B. Endocarpio (carozo)

Es una cápsula dura y fibrosa en la cual está encerrada la semilla (Figura 2). La composición química del endocarpio de *P. pallida* se muestra en el Tabla 3.

La fibra dietética insoluble es el componente mayoritario del endocarpio. El análisis más detallado de esta fracción muestra a polisacáridos celulósicos (40%) y lignina (17%) como sus principales constituyentes (Saura *et al.*, 1991)

Tabla 3: Composición de endocarpio de *Prosopis pallida*

Componentes principales (g/100 g base seca)	
Fibra dietética total	92,3
Fibra dietética insoluble	88,9
Fibra dietética soluble	3,4
Azúcares solubles	1,6
Proteína	2,3
Grasa	1,3
Cenizas	1,3
Polifenoles solubles	0,7

Fuente: Cruz (2002)

C. Semillas

El cotiledón de la semilla de *P. pallida* contiene 65% de proteína, lo cual representa el 31% del peso de esta. La composición de aminoácidos de las proteínas en el cotiledón se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4: Composición de aminoácidos en el cotiledón de semillas de *Prosopis pallida*

Aminoácidos (g/100 g proteína)			
Ácidoaspártico	8,3	Valina	4,56
Treonina	2,42	Isoleucina	3,09
Serina	4,87	Leucina	7,51
Acido glutámico	21,32	Tirosina	1,89
Prolina	7,49	Fenilalanina	4,29
Glicina	4,59	TirFen	6,13
Alanina	4,34	Lisina	4,09
Cisteína	1,31	Histidina	3,1
Metionina	0,88	Arginina	14,63
Met + Cis	2,19	Triptófano	1,37

Fuente: Cruz (2002)

2.1.7 Factores Antinutricionales

Investigada cada fracción de fruto de *P. pallida* (Bravo *et al.*, 1994; Salazar, 1993), se encontraron polifenoles y taninos sólo en pequeñas cantidades

(0.81 y 0.41 respectivamente), significativamente menores al compararlas con vainas de algarrobo español (*Ceratonia siliqua*). Estos resultados son similares a los reportados en India para *P. chilensis* (Vijayakumari, *et al.*, 1997; Rajaram y Jananardhan 1991).

2.1.8 Cosecha y rendimiento..

Los principales productos de exportación del algarrobo son en forma de algarrobina y de semillas o harina de semillas para productos nutracéuticos. La colecta de los frutos debe ser realizada, en lo posible, directamente de los árboles, especialmente los totalmente maduros y bien desarrollados. Frutos que se encuentran en el suelo por largo tiempo corren mayor peligro de infestación o daño

La colecta de frutos para forraje o para su procesamiento posterior se efectúa generalmente en forma manual, donde se recolectan los frutos que se encuentran en el suelo. En la región norte del Perú los frutos suelen recogerse todos los días y en la medida en que van cayendo las vainas, para lo cual se tienden plásticos o mantas debajo del árbol (Galera, 2000.).

La cosecha de legumbres es relativamente baja en los primeros años, con 2 - 4 kg en los primeros 2 - 3 años de fructificación. Las estimaciones de rendimiento para un cultivo productivo son altamente divergentes, con 5 - 100 kg/planta en Perú, y hasta 420 kg/planta para *P. juliflora* en Brasil (Celis, 1995; Silva, 1990). En general, se asume que algunos adultos producen hasta 100 kg/planta, mientras que el rendimiento promedio es de 40 kg/planta. En una plantación de 100 plantas/ha, el rendimiento por hectárea es, por lo tanto 4 tn.

Generalmente existen dos cosechas al año, la cosecha principal ocurre en verano (enero – marzo) y la chica o San Junera (junio – julio) (Basilio P.D. (2004). En la última década en el Perú las variaciones han sido bien marcadas, ocurriendo solo cosechas San Juaneras en sectores colindantes a los ríos.

Figura 3: Cosecha de Algarrobo



Fuente: Galera (2000)

2.1.9 Suelo

P. pallida posee un espectro ecológico muy amplio y está adaptado a una alta diversidad de suelos y hábitats, se encuentra tanto en dunas de arena como en suelos pesados arcillosos, pedregosos, los suelos salinos o alcalinos son también frecuentemente poblados como se muestra en la Tabla 5. Además, las plantas bajo valores altos de pH en el suelo, alto contenido de sales y estrés hídrico, pueden seguir fijando nitrógeno. Las especies de *Prosopis*, con el tiempo, mejoran considerablemente el suelo donde crecen; esto se debe no sólo a su capacidad para fijar nitrógeno sino también por la caída de hojas; asimismo, el contenido de sales y la alcalinidad del suelo se reducen con el tiempo. Gushiken *et al*, (2001)

2.1.10 Cultivo

Se pueden usar tanto el fruto completo segmentado o en semillas individuales. Para la extracción de las semillas, la cubierta del fruto se puede remojar por 14 días, o pueden ser colocados en sacos cerrados, en cuyo caso el mesocarpo se desintegra mediante la acción de hongos. Después de estos tratamientos, el mesocarpo se extrae fácilmente mediante un lavado y las semillas permanecen en el endocarpo.

La profundidad óptima de siembra es de 10 mm. La siembra se efectúa normalmente 2 - 6 meses antes del inicio de la estación alcanzando alturas 50 - 85 cm tres meses después de la siembra. Figueroa y Dantas (2006).

Tabla 5: Características generales de las áreas de crecimiento de *Prosopis alba* y *pallida*.

	<i>Prosopis alba</i>	<i>Prosopis pallida</i>
País	Argentina	Perú
Zona	Chaco ^a	Piura, Tumbes, Lambayeque ^c
Superficie (ha)	52 000 000 ^a	5 479 315 ^c
Latitud sur (°)	22 a 33 ^a	4 a 8 ^d
Altura sobre el nivel del mar (m)	50 a 250 ^a	0 a 600 ^d
Precipitación anual (mm)	500 a 130 ^a	60 a 120 ^c
Temperatura (°C)	-6 a +45 ^a	+17 a +34 ^d
Tipo de suelo	Arcilloso ^a	Arenoso ^d
Profundidad de napa freática (mm)	4 a 15 ^b	15 a 60 ^c

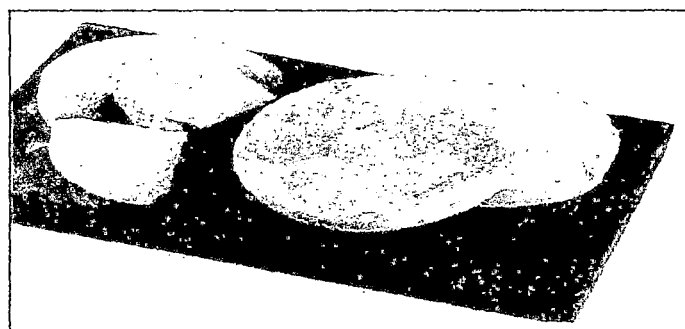
Fuente: ^a (Corini y Karlin, 1999); ^b (Roig, 1993a); ^c (Vilela, 1999).

2.1.11 Preparaciones tradicionales con algarroba

Según Carenzo y Quiriga (2006) menciona los principales productos que se elaboran a partir de la algarroba.

A. Patay: Las vainas de algarroba son secadas al sol durante unos días, cuando están lo suficientemente secas se muelen hasta obtener harina, se mezcla con agua hasta formar una masa, luego se coloca en una horma llamada localmente aro; se deja secar la masa estacionada durante dos o tres días en un sitio bien seco y limpio. Este alimento permite su consumo diferido y el transporte del mismo.

Figura 4: Patay de *Prosopis alba*



Fuente: Felker *et al.*, (2003).

B. Bolanchao: se prepara moliendo en un mortero o en un molinillo las dulces frutas del mistol (*Ziziphus mistol*), la molienda no debe ser tanta

que las reduzca a pasta, sino a una masa granulosa, no requiere añadido de agua ya que la propia humedad de las frutas aporta la consistencia. Luego se forman bolitas, que son espolvoreadas con harina tostada, preferentemente de algarrobo blanco. Este alimento también resulta práctico para transportar en caso de realizar actividades fuera del espacio doméstico.

C. Arrope: es el producto obtenido mediante la concentración del mosto a fuego directo hasta llegar a la caramelización de sus azúcares. Se hierve el mosto dejando reducir la preparación hasta que espese y conseguir una consistencia de almíbar o jarabe. Se consume frío, solo o añadido a diferentes preparaciones.

D. Añapa: denominada también "agua dulce", es una bebida que se prepara moliendo suavemente la algarroba en un mortero, sin ejercer demasiada presión para solo despegar la pulpa de las semillas, luego se mezcla con agua pero sin dejar que estas fermenten. Se obtiene una bebida dulce, sin necesidad de agregar azúcar. Es refrescante y se les da a los niños con frecuencia.

E. Algarrobina: la preparación de la algarrobina es uno de los principales usos de la algarroba. Tradicionalmente se prepara poniendo a hervir las vainas de algarrobas bien secas, posteriormente el jugo se filtra y se pone a concentrar por evaporación en recipiente sobre la cocina. La algarrobina puede consumirse como uso medicinal especialmente para combatir la disentería en niños debido a sus características astringentes. Además es usada por personas de bajos recursos económicos como concentrados vitamínicos y complejos alimenticios.

F. Café de algarroba:

El proceso de obtención del sustituto de café consiste en el tostado de la pulpa de algarroba triturada (*P. pallida*). El tostado se realiza en un recipiente de fondo ligeramente cóncavo y de gran diámetro, donde se calienta la algarroba hasta que se torna marrón oscuro uniforme. Se deja enfriar y se muele para uniformar el tamaño del grano. El producto fino logrado se utiliza de la misma manera que el café, es decir, obteniendo la "esencia" de café por percolación. El producto presenta ventajas respecto al café porque al no contener cafeína no es estimulante ni dañino a la

salud, y es ligeramente más barato. Además, tiene cierto valor nutritivo, pues la bebida preparada con el café de algarroba contiene los azúcares naturales de ella (Ruiz *et al.*, 1999).

Recientemente, algunas pequeñas fábricas en Perú comenzaron a elaborar nuevos productos alimenticios de vainas de *P. pallida*. (Cruz, 2002).

Figura 5: Algarrobina y café de algarroba



Fuente: Felker *et al.*, (2003)

G. Aloja:

Aloja nombre dado a diversos tipos de bebida en España, Argentina, Chile, Bolivia y algunos otros países hispanoamericanos. Dependiendo del lugar del mundo al que se refiera, la aloja puede tener diversas recetas.

La etimología de la palabra, pese a que la primera sílaba de la palabra sugiere un origen árabe, pasó al español desde el griego: ἅλῳη (halóē), ὀξεία (óxia)= áloeagrio a través de la transcripción latina : aloxi

La aloja es una bebida autóctona fermentada de color lechoso y gusto dulce, muy antigua. Para su preparación machacan en un mortero los frutos del algarrobo, en especial blanco, y ponen la pasta a fermentar con agua en una tinaja o en una batea de palo borracho. A los dos días van sacando con las dos manos los restos de chauchas que quedan y agregan mayor cantidad de algarroba machacada, para que

siga la fermentación. De vez en cuando prueban para saber cuándo estará a punto la bebida. Una vez lista, la toman, porque no se conserva por mucho tiempo.

Esta bebida, al ser elaborada en forma casera, no es muy difundida. La misma se utiliza con fines medicinales por sus propiedades diuréticas.

Puede servir para la fabricación de aguardiente y alcohol. (Oliszewski N., 1999)

- Aloja Bebida alcohólica en Argentina

La forma más común de aloja es una bebida alcohólica preparada por la "algarroba" o "algarrobo" (*Prosopis alba* ó *Prosopis nigra*). Se elabora mediante un proceso rudimentario que consiste en colocar en un recipiente cerrado este fruto con agua pura, aproximadamente cinco algarrobas maduras, medianas por cada litro de agua, Basta con partir en dos partes cada algarroba para un correcto proceso de fermentación. También puede agregarse un poco de azúcar, pero desvirtúa el sabor final de la bebida. Colocado el recipiente en un ambiente oscuro por un periodo de aproximadamente 2 - 3 días se genera el suficiente grado etílico para convertirla en una bebida de sabor muy agradable para beber en cualquier momento u ocasión. Cuanto más tiempo se deje el preparado mayor es la graduación alcohólica que alcanza, no siendo recomendable dejar por más de dos semanas el preparado, siendo frecuentemente de color anaranjado. Alcanzada la graduación deseada, se extraen las algarrobas y puede conservarse refrigerado.

Es una bebida típica del noroeste y de la región Chaqueña de Argentina, lugares donde abundan los algarrobos. Hasta el año de 1960 era común la venta de aloja en quioscos (despachos callejeros) especiales ubicados en las plazas de ciudades como San Miguel de Tucumán, los

quioscos de aloja eran estructuras metálicas que por su forma solían ser llamadas "campanas". Existen otras variantes de aloja según el ingrediente principal que se utiliza, por ejemplo: aloja de maní, maíz etc. Es de notar que con una preparación semejante aunque sin que llegue a fermentar o con una fermentación tan leve que la graduación alcohólica sea de $<1^\circ$ se produce una bebida refrescante llamada añapa. En Argentina la aloja de tipo español que se prepara solo con agua, especias y miel es llamada aloja de miel. (Madeiros, 1988).

Burkart (1992) explica el proceso de preparación de la "aloja" en Salta (Argentina): "se machacan las algarrobas (*Prosopis alba*) en un mortero y se colocan en una tinaja agregándole agua. Se tapa y se deja fermentar. A las 24 h, comienza ya la formación de burbujas. A las 48 h, se saca la parte sólida estrujándola entre las manos bien limpias y se agrega una mayor cantidad de algarroba. La proporción definitiva es: algarroba molida, 1 parte; agua, 4 partes. En cuanto a la levadura de la "aloja" es probablemente un *Saccharomyces* de alta fermentación. Está siempre acompañada por gran cantidad de bacterias, especialmente fermentos lácticos, y por hongos. El inconveniente para la difusión de esta bebida es que no se conserva, sino que debe tomarse enseguida. Por su gusto agradable, acidulado, se compara ventajosamente con otras bebidas alcohólicas similares".

▪ Aloja Bebida alcohólica en Chile

Una bebida tradicional en Chile, es la aloja de culén (*Otholobium glandulosum*). También se usa en la preparación del "ponche de culén," una bebida espirituosa tradicional que se elabora para celebrar navidad y año nuevo: palitos frescos y descortezados de culén se hierven en agua, se cuelean, y con el líquido y azúcar se hace un almíbar, al que se añade aguardiente una vez que está frío.

En la localidad de San Pedro de Atacama, Región de Antofagasta, el pueblo indígena lickanantai (atacamas o, atacameños) prepara una bebida alcohólica fermentada a base de agua y frutos de algarrobo criollo (*Prosopis alba*) que los españoles cuando llegaron a la región, lo llamaron aloja. Sin embargo el nombre en lenguaje kunza es *ckilapana* (Vilela, J., (1999).). La *ckilapana* hoy se utiliza principalmente en actividades tradicionales de las labores agrícolas-ganaderas como la limpia de canales, las mingas de siembra y trillas, "floreamiento" de ganado auquénido, etc. Sin embargo, no existen documentos de estudios de esta bebida, solo reseñas históricas de aquellos que visitaron la zona de San Pedro de Atacama en el siglo XIX. (Madeiros. 1988)

- Aloja Bebida alcohólica en España

Se llamaba *aloja* a una bebida que era servida en los corrales de comedias en los siglos XVI y XVII. Estaba compuesta de agua, miel y especias (como canela o pimienta blanca) y era vendida en los alojeros, cuando había función. Es probable que esta bebida en principio anahalcólica (no alcohólica) fuera posteriormente mezclada con vino, burlando la legislación. (Vilela, J., 1999).

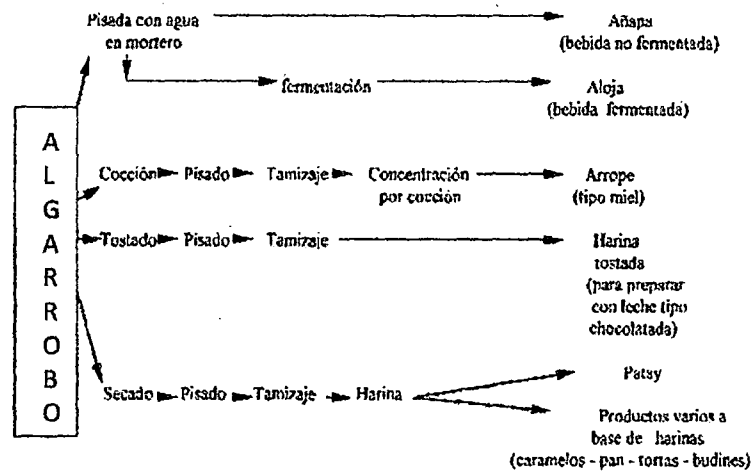
2.1.12 Procesamiento para obtener nuevos productos

Investigaciones más recientes en Perú están orientadas a la producción de harinas refinadas y jugos concentrados (almíbares) de la algarroba y es muy promisorio su aplicación en alimentos humanos (Felker *et al.*, 2003).

El procesamiento involucra la separación de las partes del fruto, siendo la fracción de mesocarpio (pulpa) la que ofrece más posibilidades de aplicación, en forma de harinas o extractos (Cruz, 2002).

En la Figura 6 se ilustra los diferentes productos que se pueden generar a partir de la vaina de *Prosopis pallida*. Según Traskaukas *et al* (2001), del fruto del Algarrobo se pueden extraer un sin número de productos que pueden ser destinados al consumo humano o animal de excelente calidad nutricional.

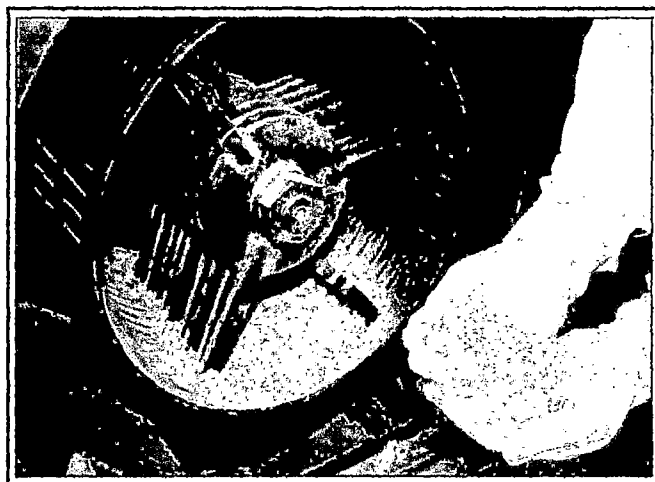
Figura 6: Productos que se pueden obtener a partir del procesamiento del fruto del Algarrobo.



Fuente: Traskaukas *et al.*, (2001)

En Perú, se construyó un prototipo de molino específicamente para procesar algarrobas de *Prosopis pallida* perfeccionando el diseño de una trilladora de cereal; cuenta con varios martillos fijados a un eje rotativo y cortos martillos montados en una malla metálica (Figura 7). Con este molino de escala piloto se consigue la separación de algarroba en cuatro fracciones y la recuperación de semillas enteras (Grados y Cruz, 1994)

Figura 7: Trilladora de martillo.



Fuente: Díaz (2001)

2.2. HARINA DE ALGARROBO (*Prosopis pallida*)

2.2.1. Conceptos Generales

Prokopiuk *et al.*, 2001, nos indica que durante la molienda y tamizado de las algarrobas secas de *Prosopis alba* y *P. pallida* se obtuvieron cuatro fracciones, con rendimientos en pulpa del 54,5% y 55%, respectivamente. La harina de pulpa de *P. pallida* también puede usarse para obtener almíbar "algarrobina". Al estar finamente molida, la extracción es más rápida que en el proceso tradicional de obtención de "algarrobina" (de frutos enteros), y además no requiere tanto calor. La torta de filtro que queda de la extracción, lavada y secada, puede usarse para enriquecer productos alimenticios con fibra dietética (Cruz, 2002). Se han caracterizado estos almibares y fibras dietéticas, procesados bajo diferentes condiciones (Bravo *et al.*, 1998).

Se puede, de acuerdo con un ensayo realizado en la Argentina, reemplazar la harina de trigo por harina de *Prosopis alba*, hasta el 4% en la obtención de pan francés y pan de molde, y hasta el 12% en el caso de galletitas dulces (Rozycki *et al.*, 1998). La harina puede ser incorporada dentro de una variedad de productos alimenticios incluyendo pan, bizcochos y tortas. La ausencia de almidón es sin embargo una limitación para los niveles de harina de *Prosopis* en las formulaciones del pan (Cruz, 1999). Se ha estudiado el comportamiento reológico de las harinas compuestas por *P. pallida* y trigo, con porcentajes de algarroba de: 5 a 10% en pan; y hasta 25% en galletas (Cruz, 2002). En el pan se ha determinado que la harina de algarroba aumenta la elasticidad de la masa, pero le resta resistencia, con lo cual, el pan leudado es más suave pero con menor volumen. El pan que contiene 5% de harina de *P. pallida* se ha calificado como aceptable, tanto en textura como en sabor. En galletas, la sustitución de harina de trigo por harina de algarroba tiene efecto positivo, pues reemplaza parte del azúcar en la formulación, y confiere sabor y aroma muy agradables. Algunas personas han reportado un ligero gusto amargo después de consumir estos productos, pero otras, sin embargo, lo encuentran agradable (Cruz, 2002).

Se ha ensayado en Perú la obtención de harina de *P. pallida* enriquecida en proteína (del 8,11 al 15,64%) por fermentación aeróbica con *Saccharomyces sp.* (Ruiz, 1999), y la producción de alcohol etílico, por el alto contenido de

azúcares en la pulpa, con un rendimiento del 51% respecto al teórico (Clavijo, 1991).

Estudios preliminares muestran que se puede obtener un polvo soluble instantáneo de las harinas finas de *Prosopis alba* y *P. pallida* remoliendo y tamizando a través de una malla de 0,15 mm, que podría usarse como sucedáneo de cacao (Prokopiuk *et al.*, 2001). Se han llevado a cabo mejoras de las propiedades nutricionales y sensoriales de harina de pulpa de *P. pallida* mezclándola con otras harinas de cereales y con cacao (Grados y Cruz, 1996). En Perú, se están desarrollando nuevos productos alimenticios de las vainas de *P. pallida* adaptando tecnologías de proceso a situaciones rurales. Se produce un polvo llamado "algarropolvo" a partir de frutos enteros finamente molidos en un pequeño molino rural procesador de vainas (Cruz, 2002).

2.2.2. Obtención de la harina de algarroba

En la post cosecha del producto se inicia el proceso de obtención de la harina que consta de las siguientes etapas: recepción y pesaje del material cosechado, selección y adecuación, pesaje de la materia prima, lavado y desinfección, primer secado, primera molienda, segundo secado, segunda molienda, tercer secado, tamizado y empaque. Según Grados y Cruz (1994).

A. Recepción

En esta operación se recibe la algarroba, y se somete a una selección manual.

B. Pesaje de la materia prima

Esta operación se realiza con el fin de medir la cantidad real del producto que ingresa al proceso de transformación y así determinar el rendimiento del proceso de obtención de harina de algarrobo.

C. Lavado

Este proceso se hace con el objeto de retirar las impurezas que la algarroba pueda traer a la planta desde el cultivo; normalmente se realiza a mano; igualmente se debe realizar una inspección final por parte del operario para retirar el material que no haya sido seleccionado.

D. Primer Secado

Las algarrobas una vez lavadas se deben acopiar en lugares secos y aireados. El secado se hace de diversas formas, dependiendo del volumen que se produzca; las empresas que mueven volúmenes pequeños lo realizan directamente al sol (lo que no es muy recomendable) y otras empresas un poco más desarrolladas se apoyan con la ayuda de ventiladores. En la medida en que el mercado aumente y los volúmenes de producción sean grandes se hace necesario el empleo de máquinas de secado artificial.

E. Primera Molienda y Secado

En esta primera molienda las algarrobas secas y ya clasificadas, se muelen a través de un molino de martillos de 3000 rpm, contando con una criba de 12 mm de diámetro. El rendimiento aproximado en esta molienda es de 40 a 50 kg de fruto por hora. Si hay humedad en el ambiente, esta harina gruesa (primer producto) tiende a absorber humedad luego de la molienda. Por lo tanto debe desparramarse en un catre de madera cubierto con una malla media sombra y un plástico transparente. Esta operación se realiza durante el día y según la humedad del ambiente. El punto óptimo de secado se conoce cuando está en condiciones de hacer la molienda con criba de 2 mm de diámetro.

F. Segunda Molienda y Secado

Se realiza con el mismo molino de martillo, pero colocando una criba de 2mm. Este secado se realiza en un ambiente techado para evitar el recalentamiento producido por la incidencia directa del sol. El efecto de secado se logra a través del paso de una corriente de aire, que se logra con un secador solar con cámara de secado indirecta. El aire se calienta recorriendo a la parte del captador solar y pasa a través de estantes con bandejas ciegas o perforadas (según se estén secando harina).

G. Tamizado Mecánico

Con una herramienta propulsada manualmente se separa la harina del afrecho. El producto molido (harina de algarroba) queda listo para ser utilizado en el siguiente proceso.

2.2.3. Valor Nutricional de la Harina de Algarroba

Según Díaz. (2001), menciona:

A. Carbohidratos.

Se destaca la presencia de entre un 40 y 50% de azúcares naturales (fructosa, glucosa y sacarosa) que hacen innecesaria la adición de azúcar refinada que requiere el cacao. Esto hace que sea un alimento energético por excelencia: 313 Kcal cada 100 gramos

B. Proteínas

Su aporte es significativo, sobre todo al mezclarse con otras harinas, como el trigo, el maíz u otros cereales. Si bien la harina sola no puede reemplazar a la carne o a los quesos, al mezclarse con un cereal se puede lograr un equivalente al valor de las proteínas animales.

C. Fibras

Díaz (2001) menciona que la harina de algarrobo es muy abundante, sobre todo en las de cernido grueso. Durante el proceso de la digestión y junto con los hidratos de carbono produce una lenta transformación de azúcares.

D. Minerales

Posee una cantidad muy alta de minerales. Se destacan:

- Calcio, en cantidades similares a las del queso, seis veces más que el cacao
- Hierro, que en el algarrobo blanco son similares al hierro del hígado.
- Fósforo, magnesio, zinc, silicio, potasio y bajo contenido de sodio, siendo inclusive siete veces menor que el cacao

E. Vitaminas

Se encuentran las siguientes vitaminas: retinol (A), tiamina (B1), riboflavina (B2) y calciferol (D).

F. No posee gluten

Por lo cual es apto para celíacos

G. Grasas

Si bien aparecen en pequeñas cantidades, son de excelente calidad.
Su porcentaje es menor en proporción a la harina integral del trigo.

Figura 8: Harina de Algarrobo



Fuente: Díaz (2001)

Tabla 6: Análisis Proximal de la harina de algarrobo

ANALISIS PROXIMAL	HARINA DE ALGARROBO
Energía Kcal	313
Agua %	5.60
Proteínas%	11
Grasa%	3
Fibra cruda	12.5
Cenizas %	2.98
Carbohidratos %	65
Totales	100
Porcentaje de gelatinización (>95%)	98.45
Calcio	1.4 mg/gr
Hierro	0.07 mg/gr
Potasio	0.9 mg/gr
Sodio	0.13 mg /gr
Zinc	0.015 mg /gr

Fuente: Díaz, (2001)

2.3. FERMENTACIÓN

2.3.1 Definición.

Smith (2006). La fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno, y el producto final es un compuesto orgánico. Según los productos finales, existen diversos tipos de fermentaciones.

La fermentación típica es llevada a cabo por las levaduras.

Hutkins (2006) nos menciona el significado de la palabra fermentación, la cual hace referencia a los fenómenos de descomposición de la materia orgánica (líquido azucarado) con rápido y tumultuoso desprendimiento de gas. Como síntesis sobre las fermentaciones podemos establecer:

1. Las fermentaciones son reacciones en cadena catalizadas por una serie de enzimas.
2. Las secreciones enzimáticas de las distintas especies microbianas que tienen en común una fundamental actividad fermentativa presentan una gran diversidad cualitativa y cuantitativa, y a menudo sucede, aunque en menor medida, entre cepas, variedades o razas de una misma especie.
3. Los agentes fisicoquímicos del medio influyen notablemente sobre la producción y funcionalidad de las enzimas microbianas. Por lo tanto, el desarrollo de cada fermentación y el resultado final pueden ser diferentes tanto por las características fisiológicas de las levaduras como por las condiciones en que se realice la fermentación.

El proceso de fermentación es anaeróbico, es decir, se produce en ausencia de oxígeno; ello significa que el aceptor final de los electrones del NADH producido en la glucólisis no es el oxígeno, sino un compuesto orgánico que se reducirá para poder reoxidar el NADH a NAD^+ . El compuesto orgánico que se reduce (acetaldehído, piruvato) es un derivado del sustrato que se ha oxidado anteriormente. Hutkins (2006)

Desde el punto de vista energético, las fermentaciones son muy poco rentables si se comparan con la respiración aerobia, ya que a partir de una molécula de glucosa sólo se obtienen dos moléculas de ATP, mientras que en la respiración se producen 36. Esto se debe a la oxidación del NADH que, en lugar de penetrar en la cadena respiratoria, cede sus electrones a compuestos orgánicos con poco poder oxidante.

En la industria la fermentación puede ser oxidativa, es decir, en presencia de oxígeno, pero es una oxidación aeróbica incompleta, como la producción de ácido acético a partir de etanol.

2.3.2 Conceptos básicos

Madigan *et al* (2003), Las transformaciones biológicas de la materia orgánica la convierten en un producto final estable y útil como fertilizante. Estas transformaciones o reacciones se producen principalmente dentro de dos contextos; en presencia de oxígeno o aerobias y en ausencia de oxígeno o anaerobias. A continuación se define algunos términos:

A. Fermentación anaeróbica

Es la degradación de la glucosa y liberación de energía utilizando sustancias orgánicas como aceptores finales de electrones en donde algunos organismos como bacterias y las células musculares humanas, pueden producir energía mediante la fermentación y consta de dos partes fundamentales: la primera parte es la glucólisis y la segunda difiere del tipo de organismo.

No hay que confundir la respiración anaerobia con la fermentación, aunque estos dos tipos de metabolismo tienen en común el no ser dependientes del oxígeno

B. Fermentación aeróbica

Se explica en la industria de la fermentación puede ser oxidativa , es decir , en presencia de oxígeno , pero es una oxidación aeróbica incompleta , como la producción de ácido acético a partir del etanol , por un género de bacterias aeróbicas como son los bacteria *Acetobacter* , que trasforma el alcohol en ácido acético , además con este tipo de fermentación se produce industrialmente el vinagre , ácido cítrico , enzimas , penicilina , etc. Todos estos productos son el resultado de procesos microbianos y se llaman productos de fermentación.

C. Respiración anaeróbica

Es un proceso biológico de oxidoreducción de azúcares y otros compuestos en el que el aceptor terminal de electrones es una molécula, en general inorgánico, distinto al oxígeno. La realizan exclusivamente algunos grupos de bacterias. En la respiración

anaeróbica no se usa al oxígeno, sino que para la misma función se emplean otra sustancia oxidante distinta, como el sulfato o el nitrato.

D. Respiración aeróbica

Hace uso del O_2 como aceptor último de los electrones desprendidos de las sustancias orgánicas. Es la forma más extendida, propia de una parte de las bacterias y de los organismos eucariontes, Madigan *et al* (2003).

E. Bebida Alcohólica

Producto alcohólico apto para el consumo humano, obtenido por procesos de fermentación de materia prima de origen vegetal y que es sometido, o no, a destilación, rectificación, infusión, maceración o cocción de productos naturales, con un contenido alcohólico mayor del 0,5% en volumen; el producto puede o no ser añejado estar adicionado de diversos ingredientes y aditivos.

F. Bebida Alcohólica fermentada

Bebida alcohólica obtenida por la fermentación de jugos azucarados de frutas o por la fermentación de azúcares obtenidos de almidón de cereales, por cualquier proceso de conversión

La palabra define a una bebida fermentada de baja graduación alcohólica, generalmente alrededor de 3 a 7 grados, que se obtiene por la fermentación de azúcares o almidones que se transforman en alcohol gracias a la acción de levaduras del género *Saccharomyces*. El grado alcohólico de la bebida varía según la mezcla de base, las levaduras presentes y el tiempo de fermentación. En las chichas el rendimiento en alcohol era bajo por la fermentación espontánea.

En el caso de los almidones, se produce primero su desdoblamiento en azúcares simples por la acción de enzimas a través del proceso de maltaje, necesario para la obtención de las sustancias fermentables. Para la chicha de maíz y otros cereales, el procedimiento se iniciaba en líneas generales, remojando los granos por algunos días, para luego dejarlo en reposo en un local húmedo y oscuro hasta que empezara a germinar. Cuando aparecía la raíz se sabía que las transformaciones químicas de los almidones del grano habían formado las enzimas necesarias para la fermentación, al cabo de lo cual se colocaban al sol y se dejaba secar. Así tostado y seco el producto se

molía constituyendo la base farinácea y fermento de la chicha. En el momento en que se requería, este producto era hervido en agua y dejado fermentar por algunos días, se obtenía la bebida (Madeiros 1988; Estrella, 1988).

El proceso de preparación tradicional partía a menudo de harina de maíz masticada, pues la ptialina de la saliva inicia la degradación de los almidones. Así se formaba el *muku* con lo que se obtenía una bebida con especiales propiedades de fermentación y gusto característico (Mendoza, 1957). Un procedimiento similar es mencionado también para la yuca (Raimondi, 1929) y para la quínoa (Vásquez, 1967).

2.3.3 Factores que intervienen en el proceso de fermentación.

En el mosto, las levaduras encuentran los constituyentes que les son necesarios para asegurar sus funciones vitales. Entre ellos, se encuentran los hidratos de carbono, los ácidos orgánicos, sales minerales, pH, constituyentes nitrogenados y factores de crecimiento y supervivencia. De manera general, con una correcta inoculación (10^6 cél/ml) la fermentación se inicia rápidamente y llega a su término. Por lo tanto, el correcto desenvolvimiento de la fermentación alcohólica, y en consecuencia, la calidad de la bebida alcohólica resultante, dependen de numerosas variables; algunas de naturaleza química, otras están referidos a carencias nutricionales y a la presencia de inhibidores. Estos factores se podrían clasificar en tres grupos:

- La composición del mosto: concentración de azúcares (dependiendo de la dilución a la que sea sometida), acidez, disponibilidad de nutrientes y factores de crecimiento y el contenido en sustancias fenólicas.
- Microbiota
- Las condiciones operativas.

Los problemas de fermentación han constituido serios obstáculos técnicos para el normal desarrollo del proceso; entre ellos están: comienzos de fermentación tardíos (tiempo), fermentaciones "languidecientes", detenciones de la fermentación antes del agotamiento completo del azúcar. Una interrupción de la fermentación constituye un peligro grave, no solamente para la dificultad de reiniciarla, sino también porque en tal situación puede temerse que ocurran desviaciones bacterianas que

provocarían un aumento de la acidez volátil, deteriorando la calidad del producto final. (López, C. 1988)

Para comprender la explicación de estos fenómenos es necesario considerar la fermentación bajo su aspecto biológico. La fermentación alcohólica no es solamente un balance analítico en el que figura la equivalencia entre el peso de azúcar degradado y la suma de productos principales y secundarios. Esencialmente, la fermentación es la consecuencia del conjunto de actividades bioquímicas por las que la levadura se procura la energía necesaria para la biosíntesis de la sustancia celular, asegurando la edificación de su esqueleto carbonado, su multiplicación, su conservación, es decir, el conjunto de sus funciones vitales.

La influencia del medio y de las exigencias tecnológicas se manifiesta sobre el crecimiento y el metabolismo de las levaduras.

Según Cañon y Aldama (1998), los factores que pueden afectar el proceso de fermentación son el pH, temperatura, concentración de nutrientes y la aireación, entre otros. Uno de los criterios de mayor importancia para el éxito en los procesos de fermentación, es la selección de la cepa y el sustrato conveniente.

A. Temperatura

Es una de las variables que afectan la fermentación ya que es influenciada tanto por factores fisiológicos como problemas físicos, como puede ser la pérdida de agua debida a la evaporación al trabajar con temperatura elevada. La temperatura óptima se sitúa entre 18 y 30 °C. Con menos de 10 °C la fermentación no empieza y si supera los 35 °C, se detiene. La velocidad de transformación de azúcar, crece con la temperatura. A medida que la temperatura es más elevada, la entrada en fermentación es más rápida. (Cañon y Aldama (1998)).

Además de seleccionar la temperatura adecuada para iniciar la fermentación, es importante durante el transcurso de la misma vigilar que no sea demasiado lenta ni demasiado rápida. La temperatura inicial no debe ser inferior a 18°C. La temperatura idónea depende de la levadura y puede ser muy distinta para una fermentación natural (sin adición de levaduras seleccionadas) o utilizando una levadura seleccionada. En general, aplicando las medidas correspondientes se puede conseguir que la temperatura de fermentación oscile alrededor de 20°C. Con ello

además de influir sobre la duración de la fermentación, también se puede controlar la formación de alcoholes de alto peso molecular. Cuando la temperatura de fermentación es más elevada, también cabe esperar que haya más alcoholes de alto peso molecular. Especialmente en los recipientes de fermentación grandes en los que el calor producido por fermentación no puede desprenderse, o solo en pequeñas proporciones a través de la superficie del recipiente, hay que recurrir a la refrigeración para que incluso con fermentaciones muy intensas la temperatura no sobrepase los 28°C. Temperaturas superiores a esta pueden provocar una interrupción súbita de la fermentación que se denomina "cocido". En estos casos, además del efecto de la temperatura se suma el efecto del alcohol, es decir, la influencia sobre la actividad de la levadura a temperaturas elevadas será más intensa cuanto mayor sea el contenido alcohólico ya alcanzado. (Kolb 2002)

B. pH

Este es un factor importante en la fermentación, debido a su importancia en el control de la multiplicación de bacterias no deseadas como también al efecto del crecimiento de las levaduras, en la velocidad de fermentación y en la formación de alcohol. (Cañon y Aldama (1998) Carballo, 2000. En los procesos de fermentación los pH deben estar controlados en rangos de 4 – 5 para reducir el riesgo de contaminación bacteriana.

Las bacterias, desarrollan un trabajo óptimo en un rango de pH de 6.5-7.5 mientras que las levaduras prefieren un ambiente ligeramente más ácido entre 4.0 y 5.0 (Mato, *et al.*, 2005) (Lamikarra, 1997)

El mejor crecimiento y utilización de la glucosa se obtiene con valor de pH cercanos 4 – 4.5 (Tuite y Oliver, 1991)

La variación en las características organolépticas de la bebida alcohólica se atribuye a la formación de productos secundarios (esteres, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, alcoholes superiores, etc.) (Ribéreau, *et al.*, 2006).

C. Concentración de nutrientes

La presencia de sustancias nutritivas adecuadas es una condición necesaria para el crecimiento y desarrollo de microorganismos como bacterias y levaduras, siendo su concentración un factor primordial en la

actividad vital de los microorganismos. Las principales sustancias nutritivas y las más influyentes son el nitrógeno, fósforo, azufre, vitaminas y trazas de algunos elementos, (Cañon y Aldama (1998).

La concentración de hidratos de carbono, tiene un cierto papel en el transcurso de la fermentación alcohólica debido a la presión osmótica derivada de las sustancias en disolución. .

Cuanto mayor sea la concentración de una solución para fermentar, mayor es su poder "poder de aspiración osmótica", que extrae agua de las células de la levadura, que constituye aproximadamente el 78% de su peso, alterando así la actividad metabólica de las células de las levaduras sensibles. Solo se puede influir sobre el contenido en azúcar cuando se puede trabajar con un material de partida diluido , o cuando después de empezar la fermentación se puede añadir azúcar (azucarado escalonado) .La cantidad de azúcar necesaria para obtener el contenido alcohólico deseado se añade a pequeñas proporciones, diluyéndola bien directamente en líquido en fermentación , o si además de buscarse un aumento del contenido alcohólico se pretende reducir el contenido en ácidos mediante una dilución , se puede añadir disuelto en agua. Con ello la tensión de las levaduras debida a la concentración de azúcar es menor. (Kolb 2002)

D. Aireación

El aire es un factor decisivo en la fermentación aeróbica, ya que su presencia hace más vigoroso el crecimiento de la levadura durante la multiplicación de la célula, además existen tres puntos de vista de gran importancia que favorecen en el rendimiento debido a una buena aireación:

El libre y constante abastecimiento de oxígeno de cada célula de sustrato. La eliminación rápida de CO₂, porque en concentraciones relativamente pequeñas inhibe el crecimiento.

El mantener en suspensión las células de levadura, a fin de que en la tumultuosidad de la mezcla se renueve constantemente el contacto entre la membrana celular y el sustrato nutritivo. (Cañon y Aldama (1998).

El contenido en oxígeno tiene distintos efectos. Hay que distinguir si va a trabajar con una levadura silvestre multiplicada en un sustrato de

fermentación, o se va a trabajar con una levadura seleccionada. Para la multiplicación de la levadura es imprescindible la presencia de oxígeno. Por eso la multiplicación de las levaduras se airea con la correspondiente instalación.

Para ello es importante conseguir la difusión lo más fina posible del gas en burbujas muy pequeñas, para obtener la mayor superficie posible que favorecerá el intercambio de fases.

La aireación de sustratos en fermentación, además del aporte de oxígeno tiene efectos mecánicos. Es fácil de entender que se obtiene simultáneamente una mezcla continua, con lo que por una parte se mantienen las levaduras en suspensión y por otro lado se consigue una distribución uniforme de los nutrientes. Asimismo, la desaparición de productos del metabolismo inhibidores de la fermentación, por ejemplo, dióxido de carbono, favorece el rendimiento de la fermentación.

El mayor efecto de la aireación es una multiplicación más intensa de la levadura. La causa reside en el hecho de que cuando existe la cantidad adecuada de oxígeno la levadura es capaz de respirar dependiendo del contenido de oxígeno que haya en el medio ambiente, también se denomina "Efecto Pasteur"

En las especies de *Saccharomyces* este efecto "de adaptación" al medio va unida a determinadas condiciones. El paso prácticamente completo de respiración a fermentación solamente puedo hacerlo cuando la concentración de azúcar es muy baja, puesto que parece que en determinados zumos y macerados en fermentación, las concentraciones habituales de azúcar inhiben las enzimas respiratorias. Otra condición imprescindible para mantener la respiración durante largo tiempo es la existencia de cantidades suficientes de sustancias que contengan nitrógeno y minerales, sobre todo fosfatos y sales de magnesio. Así mismo, en el cultivo de las levaduras es posible inhibir la producción de etanol no deseado tanto como para que prácticamente solo se produzca sustancia celular. A pesar de todo, en la práctica no se recurre a la aireación durante la fermentación principal, entre otras cosas porque la aireación aumenta demasiado el riesgo de una infección con bacterias anaerobias, y la esterilización previa de forma efectiva y fiable es técnicamente muy difícil.

En la fermentación en recipientes cerrados, la presión del ácido carbónico que existe en el interior influye sobre el desarrollo de la fermentación. El

aumento de la presión puede hacer más lenta la fermentación o incluso llegar a detenerla por completo. En la práctica el posible "control" de la fermentación mediante la regulación de la presión no tiene ninguna importancia en la producción de vinos de frutas. (Kolb 2002)

E. Fuente de carbono y la relación carbono/nitrógeno

La fuente de carbono representa la fuente de energía que puede estar disponible para el crecimiento de los microorganismos dependiendo del grado de dilución a la que sea sometida y puede ser un monosacárido simple o un polisacárido complejo. La selección de la fuente de carbono está en función de los microorganismos a emplear y el producto a obtener. Por otro lado el nitrógeno es un factor importante que determina el crecimiento de los microorganismos y desempeña un papel importante en el cambio de pH en el sustrato durante la fermentación (Tronconi, 2003).

El principal nutriente de las levaduras en los zumos y macerados es el azúcar que contiene. Pero además, para su multiplicación necesita nutrientes a base de productos que contengan nitrógeno, que si son de origen orgánico se presentan en forma de proteínas, y si son de origen inorgánico en forma de sales de amonio. Una proporción de 0.4 – 0.8 g /l, basta para cubrir las necesidades de las levaduras, especialmente cuando se fermenta con levaduras seleccionadas. (Kolb 2002)

F. Tiempo

Los mostos están bien provistos de los azúcares y minerales que necesitan las levaduras, no así de sustancias nitrogenadas. Las levaduras necesitan nitrógeno amoniacal. Un mosto en fermentación queda desprovisto de nitrógeno amoniacal en 36 horas. También puede requerirse un suplemento vitamínico, como Tiamina y Pantotenato (50 mg/l). Existen mezclas de nutrientes en el mercado que además traen cáscaras de levaduras que sirven para absorber toxinas.

2.3.4 Fermentación alcohólica.

La fermentación alcohólica (denominada también como fermentación del etanol o incluso fermentación etílica) es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire (oxígeno – O₂), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono

(por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es: $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$), dióxido de carbono (CO_2) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. Vincent *et al.*, (2006).

El etanol es el producto metabólico que puede ser obtenido por la hidrólisis de diferentes sustratos ricos en carbohidratos como: caña de azúcar, maíz, arroz y remolacha (Zaldivar, *et al.*, 2005; Karimi, *et al.*, 2006).

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico que además de generar etanol desprende grandes cantidades de dióxido de carbono (CO_2) además de energía para el metabolismo de las bacterias anaeróbicas y levaduras.

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO_2 como desechos consecuencia de la fermentación. Las levaduras y bacterias causantes de este fenómeno son microorganismos muy habituales en las frutas y cereales y contribuyen en gran medida al sabor de los productos fermentados.

Una de las principales características de estos microorganismos es que viven en ambientes completamente carentes de oxígeno (O_2), máxime durante la reacción química, por esta razón se dice que la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico (Aparicio 2004).

Si nos remontamos al origen etimológico de la palabra “fermentar”, rápidamente podremos entender lo que acontece en un depósito de fermentación. La palabra “fermentar” procede del término latino “fervere”, que significa “hervir”. Dicha denominación nos hace una idea del aspecto que toma el líquido, aunque en este caso la sensación de agitación se produce principalmente por el desprendimiento de CO_2 , no exento de un desprendimiento de calor, de aquí que no es raro pensar que de la observación del proceso, se llegase a este término. Así, lo que ahora conocemos como “levadura”, antes de Pasteur era conocido como “fermento”.

Es evidente que durante el proceso de fermentación el líquido sufre una serie de cambios, entre los que más se evidencian está el cambio en su composición, pasando de un líquido en el que predominan los azúcares (agua + azúcar) a uno en el que predomina el etanol.

Podemos por tanto plantear la fermentación como el proceso donde la glucosa es transformada por un microorganismo en etanol y en una serie de componentes con 35 especiales cualidades sensoriales (olor y sabor) y con desprendimiento de CO₂ y calor.

Para hacernos una idea, la transformación de 1Kg de azúcar produce aproximadamente 500 a 520 g. de alcohol y de 480 a 500 gramos de CO₂. (Hough, 2001).

Teóricamente se puede obtener a partir de 1 gramo de glucosa 0.511 g de etanol. Cuando se fermenta sustratos puros el rendimiento es del 95% y se reduce al 91% cuando se utilizan materias primas grado industrial. 100 gramos de glucosa pura producirán 48.4 gramos de etanol, 46.6 gramos de CO₂, 3.3 gramos de glicerol y 1.2 gramos de biomasa (células de levadura). Las levaduras usualmente demuestran un rendimiento de etanol de 0.42 g/g bajo condiciones ideales a partir de xilosa (Karimi, *et al.*, 2006).

La producción de etanol se puede realizar por diferentes tipos de fermentaciones como: batch o discontinua, continua y lote alimentado:

2.3.4.1 Fermentación batch:

Opera en un sistema cerrado, toda la materia (sustrato, cultivo de la levadura) se añade al fermentador al principio del proceso, el sistema se cierra y los productos se recogen únicamente cuando el proceso se ha finalizado. Esta fermentación es la más utilizada en la producción industrial, debido a las ventajas como: mejor costo de producción, y requiere menor control en comparación con los otros procesos (Doran, 1995; Caylak y Vardar, 1998).

2.3.4.2 Fermentación Continua:

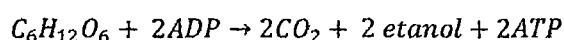
En la fermentación continua, el crecimiento del microorganismo es mantenido a una tasa estable de crecimiento mediante bombeo continuo de medio fresco y la eliminación del medio utilizado, de tal forma que, el volumen del sustrato se mantiene

constante durante el tiempo de fermentación. Por esto, si las velocidades de entrada y de salida son iguales, el proceso puede operar indefinidamente (Doran, 1995; Caylak y Vardar, 1998).

2.3.4.3 Fermentación lote alimentado:

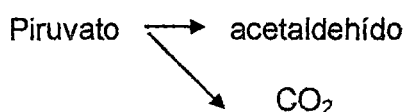
Consiste en un proceso de alimentación intermitente ya que permite la entrada de materia (sustrato e inóculo) al sistema, pero no la salida (Doran, 1995).

Aproximadamente el 96% de la fermentación del etanol se lleva a cabo mediante cepas de *Saccharomyces cerevisiae* o especies relacionadas. El etanol se produce en la ruta de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), en la que el piruvato producido durante la glucólisis se convierte en acetaldehído y etanol (Owen, 1991). La reacción global es la siguiente:



En la fermentación alcohólica no es el piruvato sino su producto de descarboxilación, es decir el acetaldehído, el que sirve de aceptor final de electrones. Con relación a la glicólisis, la fermentación alcohólica involucra entonces dos reacciones enzimáticas suplementarias:

1. La primera es la descarboxilación del ácido pirúvico, catalizado por la piruvato descarboxilasa.



2. La segunda etapa es la reducción del acetaldehído en etanol por el NADH, reacción catalizada por la alcohol deshidrogenasa, cuyo sitio activo contiene un ion Zn^{+}

2.3.5 Proceso Bioquímico de la Fermentación Alcohólica

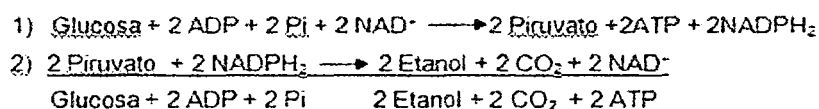
La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen

la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO₂ como desechos como consecuencia de la fermentación. García et al (2010)

A continuación se muestran las etapas comprendidas en la fermentación alcohólica de la glucosa por la levadura. Desde la glucosa hasta la síntesis de piruvato, se trata de una vía metabólica idéntica a la glucólisis muscular, denominada vía de las triosas o de Embden-Meyerhof.

Las etapas fundamentales de la misma son:

1. Formación de hexosas fosfato.
2. Formación de triosas fosfato.
3. Oxidación del gliceraldehído-3Formación del piruvato.
5. Descarboxilación del piruvato.
6. Reducción del acetaldehído.

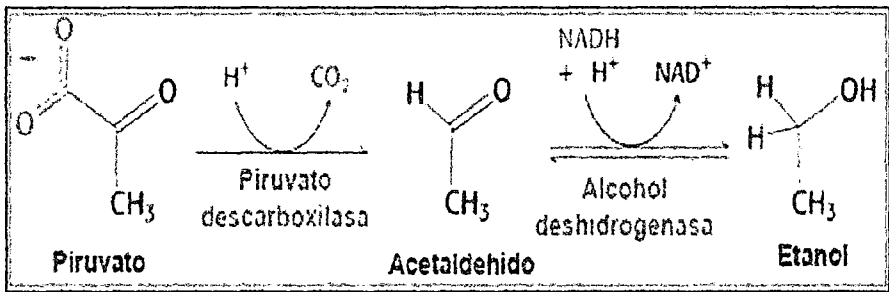


Fuente: García et al (2010).

En más detalle durante la fermentación etílica en el interior de las levaduras, la vía de la glucólisis es idéntica a la producida en el eritrocito (con la excepción del piruvato que se convierte finalmente en etanol). En primer lugar el piruvato se descarboxila mediante la acción de la piruvatodescarboxilasa para dar como producto final acetaldehído liberando por ello dióxido de carbono (CO₂) a partir de iones del hidrógeno (H⁺) y electrones del NADH. Tras esta operación el NADH sintetizado en la reacción bioquímica catalizada por el GADHP se vuelve a oxidar por el alcohol deshidrogenasa, regenerando NAD⁺ para la continuación de la glucólisis y sintetizando al mismo tiempo etanol.

Se debe considerar que el etanol va aumentando de concentración durante el proceso de fermentación y debido a que es un compuesto tóxico, cuando su concentración alcanza aproximadamente un 12% de volumen las levaduras tienden a morir, Hutkins (2006) Esta es una de las razones fundamentales por las que las bebidas alcohólicas (no destiladas) no alcanzan valores superiores a los 20% de concentración de etanol.

Figura 9: Conversión del Piruvato a Etanol



Fuente: Hutkins (2006).

2.3.6 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae es la especie de levaduras más utilizada por excelencia para la obtención de etanol a nivel industrial debido a que es un microorganismo de fácil manipulación y recuperación, no es exigente en cuanto al cultivo, no presenta alto costo, tolera altas concentraciones de etanol, en la fermentación produce bajos niveles de subproductos, es osmo tolerante, capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares, presenta alta viabilidad celular para el reciclado y características de floculación y sedimento para el procesamiento posterior (Carballo, 2000).

Muchas especies de *Saccharomyces cerevisiae* puede producir concentraciones de etanol de hasta 12 % al 14%. Existen cepas seleccionadas capaces de producir hasta un 18% a 20% de alcohol, aunque la velocidad de fermentación se fuertemente reducida cuando la concentración de etanol aumenta (Owen, 1991).

La clasificación taxonómica de la levadura se observa en la Tabla 7:

Tabla 7:Clasificación taxonómica de la levadura

Reino	Hongo
División	Amastogomycota
Clase	Ascomicetes
Subclase	Hemiascomycetidae
Orden	Endomicetales
Familia	Sacchaomycetaceae
Subfamilia	Sacchaomycetaidae
Genero	Saccharomyces
Especie	Cerevisiae

Fuente: Carballo, 2000.

Las levaduras, son organismos eucarióticos unicelulares, por lo tanto sus estructuras se encuentran formadas por pared celular, núcleo diferenciado y orgánulos como ribosomas y mitocondrias; la formación de una cápsula de polisacáridos, la ausencia o presencia de vacuolas y el desarrollo de las mitocondrias dependen de las condiciones fisicoquímicas y de la edad del cultivo (Tuite y Oliver, 1991). Las características generales de la levadura se resumen en la Tabla 8:

Tabla 8:Características generales de la levadura.

Características	Levadura
Dimensiones (micras)	4-8
Tiempo de duplicación (horas)	1-3
pH (rango optimo)	4.5-5.5

Fuente: Ospina y Palacios, 2000

Saccharomyces cerevisiae es una levadura cuya colonia es de color crema o blanco, apariencia humedad y brillante, de bordes irregulares su temperatura optima de crecimiento es de 25 a 30 °C. Puede producir ascosporas cuando hay requerimientos nutricionales adecuados.

Sus dimensiones son de: 2.5 – 10 micras de ancho y 4.5- 21 micras de largo. Microscópicamente se observan redondas y ovoides, elipsoides, a veces cilíndricas y filamentosas. Fermenta glucosa, galactosa, sacarosa y maltosa pero no fermenta lactosa. Asimila galactosa, sacarosa, maltosa y rafinosa (Ariza y González, 1997).

El nombre de *Saccharomyces* significa azúcar de hongos. Produce una fermentación vigorosa y es conocida como la levadura de la cerveza, sirve como fuente de enzimas (invertasa), como extracto de levadura autolisado para sustituir los sabores naturales del extracto de carne, hace fermentar la masa de pan, interviene en la fabricación de vino y como fuente de proteínas, vacunas, ácidos grasos y aceite (Ariza y González, 1997). En presencia de oxígeno las cepas pueden metabolizar oxidativamente sustratos como glicerol, etanol y lactato (Yepez, 1995).

Saccharomyces cerevisiae y otras especies de levaduras en general, realizan fermentación alcohólica, en la cual el etanol es formado a partir de la D-glucosa; este azúcar es convertido en piruvato por la vía de Embden-Meyerhof-Parnas en la cual el piruvato es descarboxilado a acetaldehído por

la piruvato descarboxilasa y al tiamina pirofosfato y el acetaldehído reducido finalmente a etanol.

2.4. EVALUACIÓN SENSORIAL

2.4.1 Concepto General.

- **Evaluación sensorial:** La evaluación sensorial es el análisis de alimentos y otros materiales por medio de los sentidos. La palabra sensorial se deriva del latín *sensus*, que quiere decir sentido. La evaluación sensorial es una técnica de medición y análisis tan importante como los métodos químicos, físicos, microbiológicos, etc. Este tipo de análisis tiene la ventaja de que la persona que efectúa las mediciones lleva consigo sus propios instrumentos de análisis, o sea, sus cinco sentidos.

La evaluación sensorial se ha definido como un método científico utilizado para evocar, medir, analizar e interpretar las respuestas a los productos tales como las que se perciben a través de los sentidos de la vista, el olfato, el tacto, el gusto y el oído (Stone y Sidel, 2004, citado en Lawless y Heymann, 2010). Esta definición ha sido aceptada y aprobada por los comités de evaluación sensorial dentro de varias organizaciones profesionales como el Institute of Food Technologists and the American Society for Testing and Materials (Instituto de Tecnólogos de Alimentos y la Sociedad Americana de Pruebas y Materiales).

- **El panel sensorial:** En una evaluación sensorial el jurado es un verdadero aparato de medida, donde cada juez es considerado una repetición de la medida. El registro de las respuestas sensoriales de muchos individuos permite integrar todas las performances individuales y compensar las diferencias de sensibilidad entre los miembros del jurado y que son inherentes a los factores biológicos y culturales que caracterizan al ser humano. el jurado es un captador multisensorial más eficaz que un solo juez. Son muy importantes pues de ellos depende en gran parte la validez de las pruebas Saint Pierre (2000)

- **El panel de expertos:** Son personas de gran experiencia , son los clásicos degustadores o catadores ya citados.
- **Panel de jueces entrenados:** Se trata de personas entrenadas especialmente para actuar como jueces. Deben poseer habilidades para detectar la sensación analizada y por supuesto poseer cierto conocimiento y practica acerca de la evaluación sensorial.
- **Panel de jueces consumidores:** Deben ser personas que habitualmente consumen la bebida y usualmente son elegidos al azar
- **Cantidad de jueces:** La cantidad de jueces necesaria para obtener una respuesta válida es fundamental. Mientras más numerosos sean, mejor se podrá sobrellevar la diferencia de sensibilidad entre individuos. Poca cantidad de jueces puede ser compensado con la calidad de los mismos, pero hay que tener cuidado porque la degustación es siempre difícil y pueden tener algún tipo de anosmia hacia un determinado carácter sensorial. Vilanova de la Torre (1999)
- **Entrenamiento de los jueces:** Algunas pruebas como las hedónicas no requieren un entrenamiento previo. En otras como el análisis descriptivo requiere gente entrenada. Pero siempre es necesario trabajar con jueces motivados y sobre todo disponibles. Siempre antes de una degustación se les informa a los jueces sobre el protocolo de degustación y cierta información de los productos degustados. Existen pruebas de selección donde se determina la performance de los jueces durante el análisis sensorial (Cliff y King, 1999)
- **La sala y las cabinas de degustación:** Sabido es que el lugar donde se realiza una degustación puede influir en los resultados . por ello existen salas normalizadas donde se busca minimizar ruidos y olores extraños. Es necesario un lugar silencioso con buena luz y con temperatura regulada.
- **La preparación y presentación de las muestras:** Las muestras deben ser homogéneas en la cantidad de muestra servida. La cantidad de muestras determinadas, la duración de la degustación y la posible

aparición de la fatiga sensorial que puede ser fisiológica (perdida de sensibilidad) o psicológica (el aburrimiento o perdida de interés) . es difícil hablar de un numero de muestras ya que depende de los degustadores , tipos de muestras y tipos de prueba. Cuando vemos que existe problema de fatiga lo mejor es repartir en varias sesiones las muestras sometidas al análisis sensorial

2.4.2 Los cinco sentidos de la Evaluación Sensorial

Carpenter y Lyon, 2002, mencionan el sistema sensitivo del ser humano es una gran herramienta para el control de calidad de los productos de diversas industrias. En la industria alimentaria la vista, el olfato, el gusto y el oído son elementos idóneos para determinar el color, olor, aroma, gusto, sabor y la textura quienes aportan al buen aspecto y calidad al alimento y sean aceptados por el consumidor.

A. El olor

Es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas en los alimentos; dicha propiedad en la mayoría de las sustancias olorosas es diferente para cada una.

B. El aroma:

Consiste en la percepción de las sustancias olorosas y aromáticas de un alimento después de haberse puesto en la boca. Dichas sustancias se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe, llegando a través del eustaquio a los centros sensores del olfato.

C. El gusto:

El gusto o sabor básico de un alimento puede ser ácido, dulce, salado, amargo, o bien puede haber una combinación de dos o más de estos. Esta propiedad es detectada por la lengua.

D. El Sabor

Esta propiedad de los alimentos es muy compleja, ya que combina tres propiedades: olor, aroma, y gusto; por lo tanto su medición y apreciación son más complejas que las de cada propiedad por separado.

El sabor es una propiedad química, ya que involucra la detección de estímulos disueltos en agua aceite o saliva por las papilas gustativas, localizadas en la superficie de la lengua, así como en la mucosa del paladar y el área de la garganta. Estas papilas se dividen en 4 grupos, cada uno sensible a los cuatro sabores o gustos:

- Papilasiformes: Localizadas en la punta de la lengua sensible al sabor dulce.
- Fungiformes: Localizada en los laterales inferiores de la lengua, detectan el sabor salado.
- Coraliformes: Localizadas en los laterales posteriores de la lengua, sensible al sabor ácido.
- Caliciformes: Localizadas en la parte posterior de la cavidad bucal detectan sabor amargo.

Por ello es importante en la evaluación de sabor la lengua del juez esté en buenas condiciones, además que no tenga problemas con su nariz y garganta. Los jueces no deben ponerse perfume antes de participar en las degustaciones, ya que el olor del perfume puede inferir con el sabor de las muestras.

E. Textura:

Es la propiedad de los alimentos apreciada por los sentidos del tacto, la vista y el oído; se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación.

2.4.3 Tipos de Análisis

Espinosa, 2007; habla de tres grandes tipologías:

A. Análisis descriptivo:

También denominado Análisis de Valoración (Rating Tests), es aquel grupo de tests en el que se realiza de forma discriminada una descripción de las propiedades sensoriales (parte cualitativa) y su medición (parte cuantitativa). Se entrena a los evaluadores durante seis a ocho sesiones en el que se intenta elaborar un conjunto de diez a quince adjetivos y nombres con los que se denominan a las sensaciones. Se suelen emplear unas diez personas por evaluación.

B. Análisis discriminativo:

Se emplea en la industria alimentaria para saber si hay diferencias entre dos productos, o para evaluar el efecto de un cambio en el proceso sobre las propiedades organolépticas del alimento, el entrenamiento de los evaluadores es más rápido que en el análisis descriptivo. Se emplean cerca de 30 personas.

C. Análisis del consumidor:

Se suele denominar también test hedónico y se trata de evaluar si el producto agrada o no, en este caso trata de evaluadores no entrenados, las pruebas deben ser lo más espontáneas posibles.

D. Escala hedónica verbal

Principio de la prueba de escala hedónica verbal consiste en pedirle a los panelistas que den su informe sobre el grado de Satisfacción que tienen de un producto, al presentársele una escala hedónica o de satisfacción, pueden ser verbales o gráficas, la escala verbal va desde me gusta muchísimo hasta me disgusta muchísimo, entonces las escalas deben ser impares con un punto intermedio de ni me gusta ni me disgusta y la escala gráfica consiste en la presentación de caritas o figuras faciales.

➤ Prueba Hedónica (escala de nueve puntos)

La escala más utilizada es la escala hedónica de 9 puntos (Drake, 2007), aunque también existen variantes de ésta, como son la de 7, 5 y 3 puntos o la escala gráfica de cara sonriente que se utiliza generalmente con niños (Stone y Sidel, 2004). La escala de 9 puntos es una escala bipolar. Desde su invención en la década de 1940 (Jones *et al.*, 1955; Peryam y Haynes, 1957) se ha utilizado extensamente en una amplia variedad de productos y con un éxito considerable (Clark *et al.*, 2009; Schutz y Cardello, 2001; Stone y Sidel, 2004). Es la prueba recomendada para la mayoría de estudios, o en proyectos de investigación estándar, donde el objetivo es simplemente determinar si existen diferencias entre los productos en la aceptación del consumidor. A los panelistas se les pide evaluar muestras codificadas de varios productos, indicando cuanto les agrada cada muestra, marcando una de las categorías en la escala, que va desde "me gusta extremadamente"

hasta "me disgusta extremadamente". Cabe resaltar que la escala puede ser presentada gráfica, numérica o textualmente, horizontal o verticalmente y se utiliza para indicar las diferencias en gusto del consumidor de los productos (Clark *et al.*, 2009). En esta escala es permitido asignar la misma categoría a más de una muestra (Watts *et al.*, 1989). Las muestras se presentan en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de 3 dígitos. Las muestras se codifican con números aleatorios. El orden de presentación de las muestras puede ser aleatorizado para cada panelista o de ser posible, balanceado. En un orden de presentación balanceado, cada muestra se sirve en cada una de las posibles posiciones que puede ocupar (primera, segunda, tercera, etc.) un número igual de veces (Watts *et al.*, 1989) y (Stone y Sidel 2004) exponen diferentes órdenes de presentación con ejemplos de diseños balanceados para 3, 4, 5 y 12 muestras.

Para el análisis de los datos, los puntajes numéricos para cada muestra, se tabulan y analizan utilizando análisis de varianza (ANOVA) con la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$), para determinar si existen diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados a las muestras. En el análisis de varianza (ANOVA), la varianza total se divide en varianza asignada a diferentes fuentes específicas. La varianza de las medias entre muestras se compara con la varianza de dentro de la muestra (llamada también error experimental aleatorio). Si las muestras no son diferentes, la varianza de las medias entre muestras será similar al error experimental. La varianza correspondiente a los panelistas o a otros efectos de agrupación en bloque, puede también compararse con el error experimental aleatorio (Watts *et al.*, 1989). Además, se pueden comparar los datos de consumo (escala hedónica) empleando en el análisis la prueba no paramétrica de Friedman con el procedimiento Nemenyi (Bayarri *et al.*, 2012). Mediante el uso del análisis de conglomerados (CWM, por sus siglas en inglés) se puede identificar subgrupos de consumidores con preferencias diferentes (Vigneau *et al.*, 2011; Vigneau y Qannari, 2002). Para modelar la varianza de los datos de aceptación del consumidor se puede emplear regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR, por sus siglas en inglés) (Wold *et al.*, 2001).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se desarrolló en la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, en la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias (en los ambientes de Laboratorio de Alimentos y Control de Calidad, Laboratorio de Química Orgánica, Laboratorio de Fisicoquímica); Facultad de Ingeniería Agrícola (Planta piloto de la Facultad de Ingeniería Agrícola). Se contrataron los servicios de la Facultad de Ciencias Biológicas (en los ambientes de laboratorio de Bromatología y Microbiología).

3.2. MATERIA PRIMA E INSUMOS.

3.2.1. Materia Prima:

La Algarroba fue adquirida de los campos de cultivo de las zonas de Motupe y Olmos, pertenecientes a la región Lambayeque.

3.2.2. Material Biológico:

- Para la fermentación se empleó Levadura desecada (*Saccharomyces cerevisiae*), la cual se adquirió del distribuidor de insumos Montana S.A.
- Para la elaboración de la harina se tuvo que contratar los servicios de la empresa J&R, dedicada a la molienda de algarroba, ubicada en el mercado mayorista de Moshoqueque.
- El agua utilizada para la dilución y extracción de los sólidos solubles se adquirió de la Mini planta de elaboración de agua de mesa de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, la cual cuenta con los equipos necesarios para la obtención de una buena calidad de agua.

3.3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.

3.3.1 Materiales.

- Bagueta.
- Buretas de 25 y 50 ml.
- Fiolas de 50, 100, 250 y 500 ml.
- Matraces de 100, 250 y 500 ml.

- Papel filtro whattman No. 40-42.
- Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml.
- Probetas de 10, 100 y 250 ml.
- Vasos de precipitado de 100 ml.
- Embudo de vidrio.
- Mortero y pilón.
- Cápsula de porcelana.
- Crisoles.
- Placas Petri.
- Espátula.

3.3.2 Utensilios:

- Ollas de acero inoxidable.
- Paletas de madera.
- Tamiz de tela.
- Bandejas.
- Cucharas de acero inoxidable.
- Jarras plásticas.
- Coladores de acero inoxidable.

3.3.3 Reactivos químicos:

- Agua destilada.
- Solución al 0.1N de hidróxido de sodio.
- Fenolftaleína: solución alcohólica al 1%.
- Hexano.
- H_2SO_4 concentrado
- Mezcla Cu_2SO_4 0.1 g y K_2SO_4 Na_2SO_4 10 g (mezcla catalizadora)
- Ácido bórico como indicador 4%.
- Rojo de metilo: solución alcohólica al 0.1%
- HCl 0,1 N
- Borato ácido de amonio.
- Azul de metileno al 1%.
- Reactivo de fehling

3.3.4 Equipos e instrumentos:

- Balanza analítica, marca Excell BH – 300. Capacidad 300g.
- Balanza semianalítica, marca Ohaus sensibilidad 0,1g. EE.UU.

- Estufa precisión Thelco Model 18. Rango: 0-200 °C
- Equipo de titulación.
- Equipo de destilación alcohólica.
- Equipo Kjeldahl.
- Equipo Soxhlet.
- Mufla. Escala 0- 500°C.
- Desecador de vidrio.
- pHmetro marca Hanna
- Refractómetro manual. Escala: 0-32° Brix – marca Atago modelo N-1α.
- Cocina semindustrial Fadic.
- Termómetro. Escala: 0- 100°C.
- Molino de granos.
- Biorreactores de plástico de 2 galones.
- Botellas de vidrio de 750 ml

3.4. MÉTODOS

3.4.1 Análisis de la materia prima:

Se separó una muestra representativa de 500g de vainas de algarroba, a la cual se realizaron los análisis fisicoquímicos correspondientes. Los métodos utilizados se detallan a continuación:

3.4.1.1 Determinación de humedad.

Se determinó mediante el método gravimétrico recomendado por la A.O.A.C.N°925,40 (1998).

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

3.4.1.2 Determinación de cenizas.

Se determinó por el método de incineración directa recomendado por la A.O.A.C. N° 950,49 (1998).

$$\% \text{Cenizas} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso de crisol vacío}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

3.4.1.3 Determinación de grasa.

Se determinó mediante el método soxhlet recomendado por la A.O.A.C.N°925,22 (1998)

$$\%Grasa = \frac{\text{Peso 1} - \text{Peso 2}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Dónde:

Peso 1 = Peso del recipiente con la materia grasa

Peso 2 = Peso del recipiente vacío

3.4.1.4 Determinación de proteínas.

Se efectuó mediante el método Micro- Kjeldahl recomendado por la Norma AOAC 960.52 (1995).

Para transformar el contenido de N en proteínas se multiplica por el factor correspondiente.

$$\%Proteina = \text{g de N en 100g} * \text{Factor}$$

Factor: 6.25

3.4.1.5 Determinación de fibra cruda:

Se realizó siguiendo las determinaciones de la A.O.A.C. N° 935,53 (1998).

3.4.1.6 Determinación de Azúcares totales:

Cuantificación por el método volumétrico de Fehling-Causse-Bonans, previa hidrólisis ácida (Montes, 1981). Ver Anexo N° 6

3.4.1.7 Determinación de Azúcares reductores:

Cuantificación por el método volumétrico de Fehling-Causse-Bonans, previa hidrólisis ácida (Montes, 1981). Ver Anexo N°6

3.4.1.8 Determinación de carbohidratos:

Los carbohidratos totales se calcularon restando a 100, la suma de los porcentajes de humedad, lípidos, proteína y cenizas. (Código Alimentario Argentino ,1998).

$$\%Carbohidratos = 100 - (\%H + \%P + \%G + \%C)$$

Dónde:

%H=%humedad

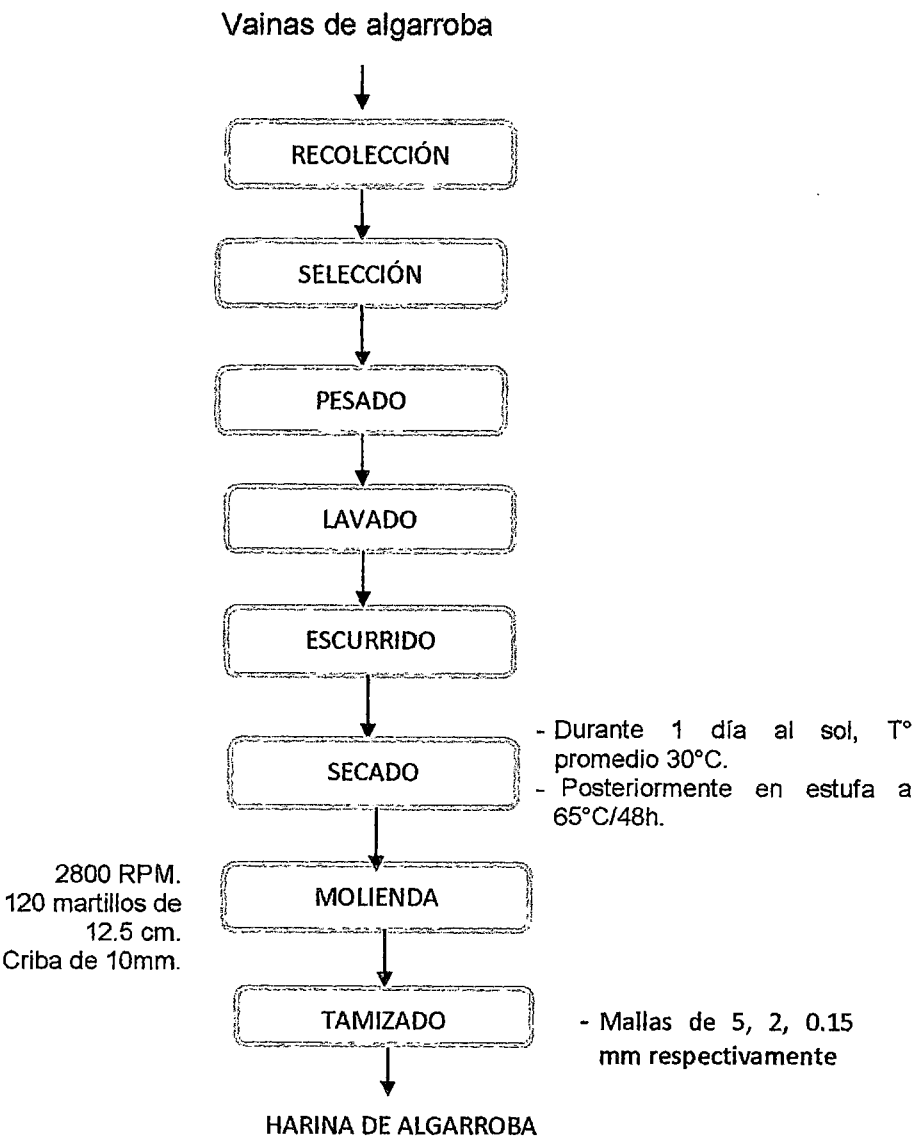
%P=%Proteína

%G=%Grasa

%C=%Ceniza

3.4.2 Diagrama de bloques para la elaboración de la harina de algarroba.

Figura 10: Diagrama de bloques para la obtención de harina de algarroba.



Fuente: Elaboración propia (2013).

3.4.3 Elaboración de la harina de algarroba para la fermentación.

3.4.3.1 Recolección

La recolección de las vainas de algarroba se hizo a mano de los campos de cultivo de los distritos de Olmos y Motupe, pertenecientes a la provincia de Chiclayo.

3.4.3.2 Selección

Se hizo a mano, separando las vainas de algarrobas que presentaban picaduras y se encontraban en mal estado.

3.4.3.3 Pesado

Se pesó las vainas de algarroba utilizando balanza de precisión para la determinación de rendimientos.

3.4.3.4 Lavado

Se lavaron por inmersión en una tina en proporción materia prima/agua (1:2), al agua de desinfección se le adicionó 5ppm de hipoclorito de sodio, por un tiempo de inmersión de 3 min (Basilio, 2004).

3.4.3.5 Escurrido y secado

Lo que se buscó con esta etapa es eliminar el agua superficial de lavado.

Las vainas de algarroba se secaron al sol durante un día, en el mes de marzo, donde la temperatura promedio que se alcanzó en ese mes fue de 30°C.

Posteriormente se realizó un secado en estufa a 65 °C por 48 horas. Donde se bajó el contenido de humedad de los frutos 11.8 a 5.54 para que se tornasen quebradizos y fáciles de moler. Posteriormente almacenados en bolsas de papel kraft para así evitar que absorba humedad del medio y evitar q se contamine con polvo, durante el traslado al Molino J&R ubicado en el distrito de Moshoqueque de la provincia de Chiclayo.

3.4.3.6 Molido

La molienda de las vainas de algarroba se realizó en un molino de martillos (120 martillos de 12.5 cm), acero inoxidable de 60 Hp, 2800 rpm, con una criba de acero inoxidable de 10mm.

3.4.3.7 Tamizado:

Se realizó con mallas de acero inoxidable de 5, 2, 0.15 mm respectivamente, donde con la malla de 5 mm se logró separar los carozos del fruto de la algarroba, con la finalidad de evitar la extracción de gomas durante la etapa de extracción de azúcares, con la malla de 3 mm se logró separar la cascara y semillas y con la

malla de 0.15 mm se logró obtener harina de calidad de acuerdo a lo establecido en la norma técnica (Anexo N°5).

3.4.4 Análisis fisicoquímico de la harina elaborada

Los análisis realizados se realizaron siguiendo la metodología con la que se realizaron los análisis para la vaina de algarroba, ítem 3.4.1

3.4.4.1 Determinación de Valor Calórico:

Para obtener el valor calórico o energético se realizara por medio de los coeficientes de Atwater mediante la obtención de los valores de los % de proteínas, % grasas y % carbohidratos, estos % se obtendrán del análisis proximal del producto terminado. El cálculo se realizara mediante la siguiente igualdad:

$$V.C. = 4(\%P) + 4(\%C) + 9(\%G)$$

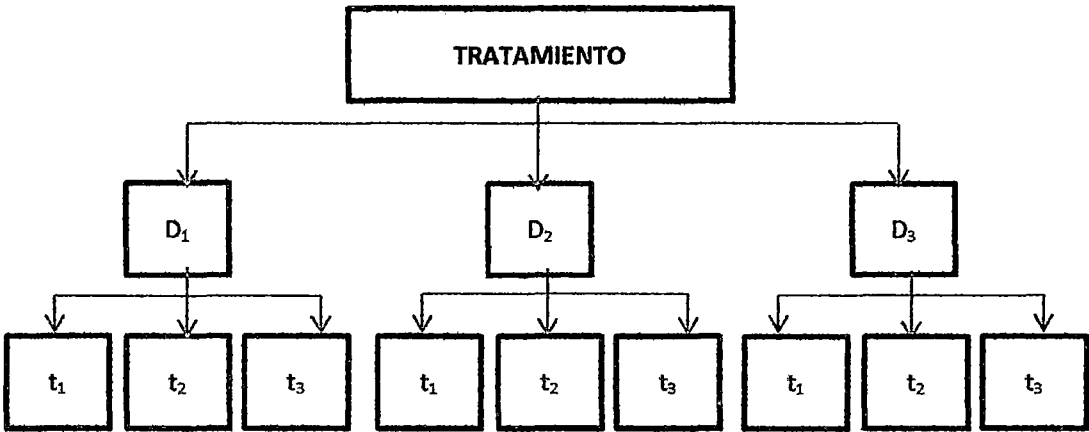
- Donde:
- %P: Porcentaje de Proteína.
 - %C: Porcentaje de Carbohidratos.
 - %G: Porcentaje de Grasa.

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN.

3.5.1 Diseño experimental

El diseño experimental que se empleó fue un diseño de bloques completamente al azar, tal como se muestra en el siguiente diagrama experimental.

Figura 11: Diagrama del diseño experimental.



Fuente: Elaboración propia (2013)

Dónde:

D₁: Relación harina de algarroba/agua: 1/3

D₂: Relación harina de algarroba/agua: 1/4

D₃: Relación harina de algarroba/agua: 1/5

t₁: Tiempo de fermentación: 24 h

t₂: Tiempo de fermentación: 48 h

t₃: Tiempo de fermentación: 72 h

El modelo matemático se presenta a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij}= Es la j-ésima observación del tratamiento i, con
j=1,2,..., J.

μ= Es la media general del experimento

τ_i= Es el efecto asociado al i-ésimo factor, i=1,2...

β_j= Es el efecto del bloque j-ésimo

ε_{ij}=Error

Se realizaron 9 tratamientos con 3 repeticiones, dichos resultados fueron sometidos a un análisis sensorial mediante el método de escala hedónica utilizando 15 panelistas semientrenados y los resultados se sometieron a un análisis estadístico a un nivel de significancia de 5 % (Anzaldúa, 1994).

3.5.2 Análisis estadístico de los datos

El análisis de varianza se hizo de acuerdo a lo establecido para el diseño experimental en bloques completamente al azar.

El análisis estadístico se realizó con ayuda del software SPSS (PASW statistics 18 versión 18).

3.5.3 Rendimiento de la materia prima.

Consistió en determinar el rendimiento que se obtuvo de harina de algarroba, según la ecuación:

$$\% \text{Rendimiento: } \frac{P_2}{P_1} \times 100$$

Dónde:

P₁: Peso de algarroba.

P₂: Peso de algarroba molida.

3.5.4 Formulación de los tratamientos.

En esta etapa se determinó las formulaciones de los extractos que serán sometidos en estudio en esta investigación. A continuación se muestran las operaciones seguidas en la obtención de los extractos, para luego ser sometido a fermentación.

3.5.4.1 Dilución de la harina

La harina de algarroba de 0.15 mm de diámetro se diluyó de acuerdo a la relación materia prima/agua, las diluciones utilizadas fueron 1/3; 1/4; 1/5, las que fueron sometidas a 100°C por un periodo de 30 min, con agitación constante, para así poder facilitar la extracción de los azúcares.

3.5.4.2 Enfriamiento

El extracto obtenido se enfrió hasta 25 °C temperatura óptima de crecimiento de la levadura según Ariza y González, 1997; con la finalidad de convertirlo en un medio adecuado para la proliferación de la levadura.

3.5.4.3 Fermentación

Esta etapa consistió en acondicionar a los mostos a un pH de 4.5 agregando ácido ascórbico, además de adicionar 3 g de levadura desecada por litro de mosto preparado, la que se activará disolviéndola con parte del mosto, adicionándose 1 ml de bactericida (Bactrol) por litro de mosto para evitar contaminaciones. (Sánchez, 2010). Anexo 23

La fermentación se realizó a temperatura ambiente, periódicamente (cada 12 horas) se controló el mosto con la finalidad de llevar a cabo el control respectivo de:

- %Grado alcohólico.
- pH
- Sólidos solubles.

Además es aquí donde se determinó el tiempo de fermentación (24, 48, 72h). En esta etapa se realizó la transformación fundamental de azúcar en alcohol y gas carbónico.

3.5.4.4 Filtración

Terminada la fermentación se procede a filtrar el mosto usando un filtro de tela, (cada mosto por separado), separando de esta manera los sólidos groseros de algarroba, del líquido de fermentación.

3.5.4.5 Maduración:

Filtrado los mostos por separados, la bebida fermentada se madura en baldes, a una temperatura de 4°C. En estos baldes permanece por periodo de un mes

3.5.4.6 Trasiego:

Para obtener un producto clarificado y así acelerar esta etapa se empleó bentonita de sodio (0,3 g/l), según; Pereira, 2009. Efectuada la maduración de la bebida fermentada esta es vertida de los baldes de maduración hacia nuevos baldes con la finalidad de separar los sedimentos. Por 3 veces. Cabe mencionar que después de realizado el trasiego se continuo manteniendo a 4°C, hasta culminar con los tres trasiegos.

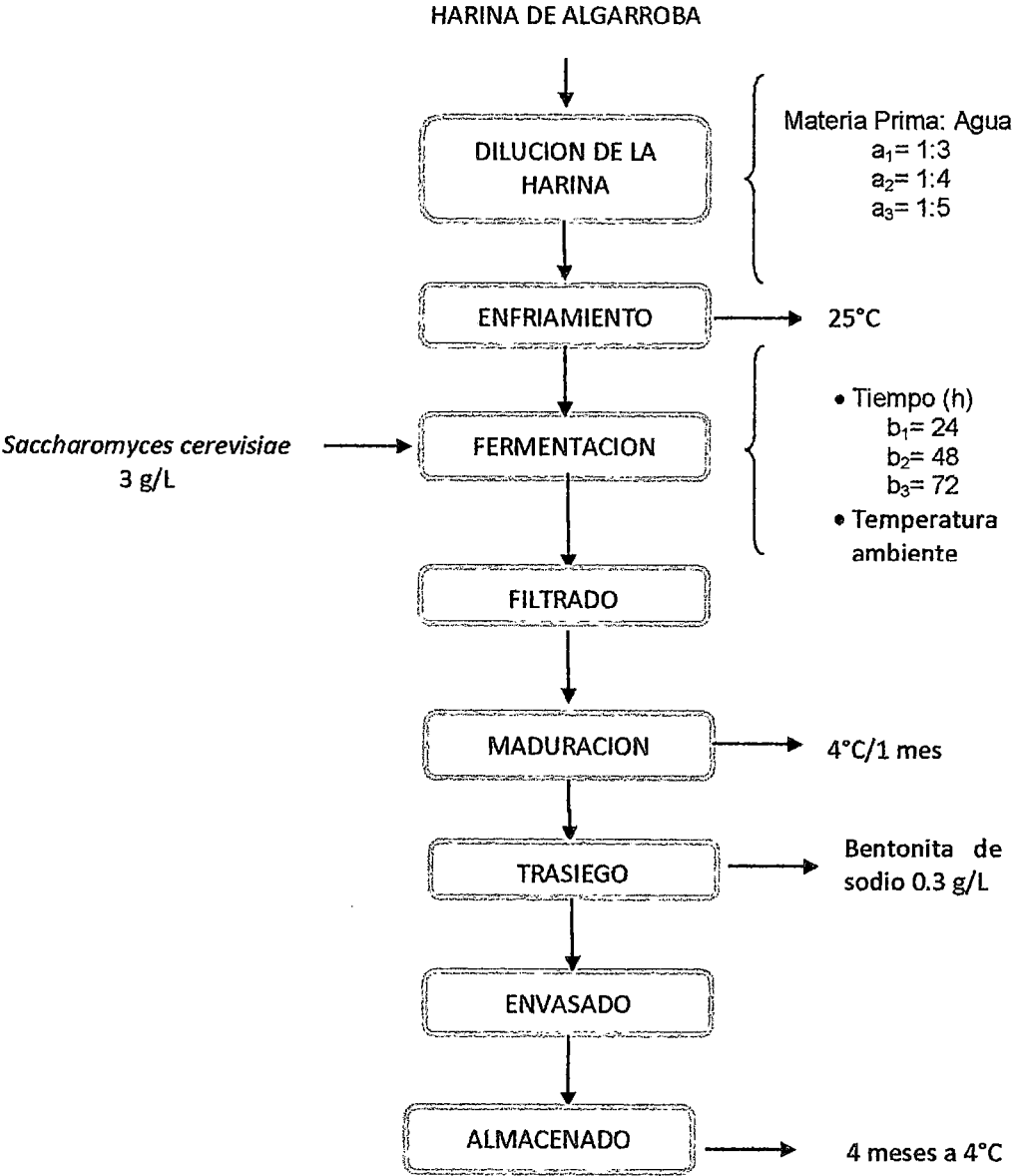
3.5.4.7 Envasado:

Se inicia con el sanitizado de las botellas, con una solución de hipoclorito de sodio a 2 ppm, durante 2 minutos de contacto, las cuales se utilizarán para envasar el producto de las diferentes diluciones. Posteriormente, las botellas son llenadas, selladas a temperatura ambiente, y finalmente son almacenadas.

3.5.4.8 Almacenamiento:

El producto debe ser almacenado en refrigeración a 4°C de donde fue extraído después de 4 meses para la evaluación sensorial.

Figura 12: Diagrama de flujo para la obtención de bebida fermentada de algarroba a partir de harina.



Fuente: Elaboración propia (2013).

3.5.5 Evaluación de los tratamientos

En esta etapa se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica y evaluación sensorial de los tratamientos obtenidos en esta investigación:

3.5.5.1 Caracterización fisicoquímica de los tratamientos:

Se realizaron los análisis de sólidos solubles (°Brix), pH, acidez titulable, densidad, contenido de grado alcohólico teniendo en cuenta la Norma Técnica Peruana de Bebidas Alcohólicas .Vino Anexo N°2

A. Determinación del pH

Se determinó mediante el método de potenciométrico. Según NTP. 204.054 (2005).

B. Determinación de sólidos solubles

Se determinó mediante el método de refractometría según A.O.A.C., 969.38B (1995).

C. Determinación de acidez

Se determinó mediante acidez titulable según NTP 211.040 (2003).

D. Determinación de densidad

Se determinó mediante el método de picnómetro según Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins. 1999.(Anexo 7)

E. Determinación de grado alcohólico

Se determinó mediante Método areométrico (Título alcohométrico) según Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins. 1999.(Anexo 8)

3.5.5.2 Evaluación sensorial de los tratamientos:

La metodología utilizada para la evaluación sensorial del presente proyecto, se realizó en base a la prueba de escala hedónica. La escala establecida para la evaluación, asumió

valores enteros (1, 2, 3, 4 y 5) de acuerdo al criterio de cada juez evaluador.

El método consiste en la determinación de las características sensoriales de color, sabor, olor, por medio de panelistas semientrenados, utilizando una escala hedónica de 5 puntos, tal como se muestra en la tabla 10, a continuación:

Tabla 10: Escala hedónica de 5 puntos para la calificación de las muestras.

Calificación	Puntaje
Me gusta mucho	5
Me gusta	4
Ni me gusta, ni me disgusta	3
Me disgusta	2
Me disgusta mucho	1

Fuente: Elaboración propia (2013).

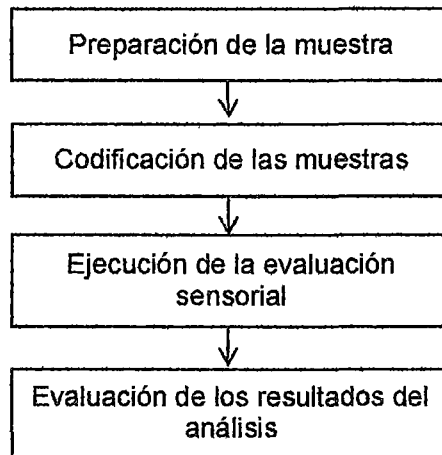
Dichos datos para ser empleados en un análisis de varianza y establecer las diferencias y grado de significancias, fueron analizados con la prueba de Tukey, con 95% de confianza.

3.5.6 Selección de jueces

La población de candidatos a jueces estuvo constituida por 15 alumnos de la Escuela de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, con conocimientos previos de Análisis Sensorial de Alimentos.

El número de muestras analizadas por los panelistas fue de 3 por tratamiento codificadas en forma aleatoria, para la cual se les entrego las muestras codificadas en vasos de plásticos. Cada panelista evaluó una vez cada muestra, donde los atributos a evaluar fueron de color, olor, sabor, evaluando según la escala hedónica de 5 a 1. Con estos datos obtenidos se pudo determinar la preferencia por las muestras de la bebida alcohólica de algarrobo y permitió conocer la muestra de mayor aceptación.

Tabla 11: Diagrama de bloques de la evaluación sensorial.



Fuente: Elaboración propia (2013).

3.5.7 Preparación de la muestra.

Las muestras previamente refrigeradas a 4°C (almacenadas durante 4 meses) se proceden a agitar y servir en los vasos de plásticos.

3.5.8 Codificación de las muestras

Se procedió a codificar las muestras:

3.5.8.1 Primera Evaluación: dilucion1:3

Codificación para el atributo de olor:

D_{1t1}: 219 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 24 horas).

D_{1t2}: 375 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 48 horas).

D_{1t3}: 506 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 72 horas)

Codificación para el atributo de color:

D_{1t1}: 214 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 24 horas).

D_{1t2}: 326 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 48 horas).

D_{1t3}: 411 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 72 horas)

Codificación para el atributo de sabor:

D_{1t1}: 252 (Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 24 horas).

D_{1t2}: 356 (Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 48 horas).

D_{1t3}: 185 (Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 72 horas).

3.5.8.2 Segunda Evaluación: Dilucion1:4

Codificación para el atributo de olor:

D_{2t1}: 854 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 24 horas).

D₂t₂: 692 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 48 horas).

D₂t₃: 538 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 72 horas)

Codificación para el atributo de color:

D₂t₁: 739(Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 24 horas).

D₂t₂: 564(Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 48 horas).

D₂t₃: 820 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 72 horas)

Codificación para el atributo de sabor:

D₂t₁: 428(Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 24 horas).

D₂t₂: 672(Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 48 horas).

D₂t₃: 295 (Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 72 horas).

3.5.8.3 Tercera Evaluación: Dilucion1:5

Codificación para el atributo de olor:

D₂t₁: 499(Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 24 horas).

D₂t₂: 523 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 48 horas).

D₂t₃: 748 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 72 horas)

Codificación para el atributo de color:

D₂t₁: 520(Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 24 horas).

D₂t₂: 358(Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 48 horas).

D₂t₃: 756 (Dilución 1/3 y tiempo de fermentación 72 horas)

Codificación para el atributo de sabor:

D₂t₁: 625(Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 24 horas).

D₂t₂: 532(Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 48 horas).

D₂t₃: 762 (Dilución 1/4 y tiempo de fermentación 72 horas).

3.5.9 Ejecución de la evaluación sensorial

Para realizar esta etapa de la investigación se elaboró un formato (Anexo N°1), presenta las siguientes partes:

- En la parte superior se muestra el título con el tipo de prueba a desarrollarse.
- Luego se procedió a colocar el llenado de datos, que consistió en el nombre del panelista y la fecha en que se realizó el análisis.

- A continuación se colocó las características a evaluar y las instrucciones del tipo de producto y la forma en que se llenarán, además se muestra la escala del 5 al 1 y en la derecha el código correspondiente de cada muestra.
- Al final del formulario se colocó una sección de comentarios y sugerencias que pueda tener el panelista que participó en la evaluación sensorial.

3.5.10 Evaluación de los resultados del análisis

Con los datos obtenidos en la evaluación sensorial se procedió a hacer el recuento de todas las fichas con las puntuaciones respectivas y se analizaron estadísticamente con un software SPSS (PASW statistics 18 versión 18) logrando determinar el tratamiento con mayor aceptación por los panelistas. Para esto se aplicó un análisis de Varianza (ANVA) y mediante la prueba de Tukey al 0.05% para encontrar si existe una diferencia significativa entre las muestras.

3.5.11 Análisis físicoquímico para el producto final

Una vez obtenido en la evaluación sensorial la muestra de mayor aceptación, se procedió a la caracterización físicoquímica y proximal del tratamiento elegido. En esta determinación se contrataron los servicios al a Facultad de Ciencias Biológicas(Laboratorio de Bromatología), , donde se enviaron a realizar los análisis de humedad, acidez, grasa, proteínas, cenizas, carbohidratos, acidez, densidad, °Brix,. El grado alcohólico se determinó mediante el método areométrico cuyos resultados se muestran en el Anexo 11 tabla 23. Teniendo en cuenta la Norma Técnica Peruana. BEBIDAS ALCHOLICAS. Cerveza .Requisitos .Anexo N° 2

3.5.12 Análisis microbiológico del producto final

De la misma manera, se contrataron los servicios de la Facultad de Ciencias Biológicas (Laboratorio de Microbiología), el tratamiento elegido de acuerdo a la caracterización físicoquímica y evaluación sensorial fue analizado microbiológicamente a través del tiempo en un periodo de cuatro meses. Para esta determinación se realizó el recuento de mohos, levaduras, bacterias Coliformes Termolatentes, totales, Mesofilos Viales, Enterococos, Escherichia Coli.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES:

4.1. Caracterización fisicoquímica de las vainas de algarroba secas:

Tabla 12: Composición fisicoquímica de la algarroba en base húmeda y base seca utilizada en la fermentación.

COMPONENTES	BASE HUMEDA %	**BASE SECA %
Humedad	11.8	13.38
Proteínas	8.01	8.7
Grasa	0.86	0.87
Fibra	20.74	26.16
Cenizas	3.22	3.32
Carbohidratos	76.11	87.11
Azúcares reductores	4.11	4.38
Azúcares totales	36.47	42.59

Fuente: Elaboración propia (2013).

**Cálculo a partir de base humedad (Anexo N° 09).

En la Tabla 12 se presentan los resultados obtenidos en la composición química de las vainas de algarrobo tanto en base seca como en base húmeda respectivamente, los valores coinciden en mayor parte por los presentados por Brako y Zarucchi (1993), Grados et al. (1994) y Cruz (2002), la humedad obtenido en la tabla es de 11.8%, este valor difiere al valor encontrado por Brako y Zarucchi (1993), que fue de 14.1% sin embargo se debe de considerar que las vainas de algarroba se secaron en estufa; además la humedad está relacionada directamente con las condiciones climáticas.

En cuanto al valor proteico se obtuvieron valores de 8.01 % en base húmeda y 8.7 en base seca, valores cercanos a los citados por Brako y Zarucchi (1993), Grados et al. (1994) y Cruz (2002) de 7.8% en base húmeda y 8.11 en base seca, dependiendo estos valores del número y tamaño promedio de las semillas en el fruto, ya que en ellas se encuentra la proteína de algarroba.

Otro valor que difiere es el contenido de fibra donde se obtuvo 20.74% en base húmeda y 26.16% en base seca, valores inferiores a los encontrado por Grados et al. (1994) y Cruz (2002), pero se debe de considerar que este valor depende

de la variabilidad de las fracciones ricas en fibra que se encuentran en el endocarpio y exocarpio de la vaina de algarroba.

4.2. Caracterización de la harina de algarroba

Tabla 13: Caracterización química de la harina obtenida.

COMPONENTES	g/100 g Base húmeda	g/100 g Base seca	A*
Humedad	5.46	5.78	5.6
Proteínas	12.74	14.65	11
Grasa	2.14	2.19	3
Cenizas	3.01	3.1	2.98
Fibra	24.47	32.39	12.5
Carbohidratos	76.65	74.28	65
Energía en Kcal	376.82	375.43	313

Fuente: Elaboración propia (2013).

A*: Composición química; según Díaz (2001)

**Cálculo a partir de base humedad (Anexo N° 10)

En la Tabla 13, se observa la caracterización química de la harina de algarroba obtenida siendo su mayor porcentaje en carbohidratos y en menor proporción en grasa alcanzando solo el 2.14 % en su composición, estos valores difieren a los reportados por Díaz (2001), ya que depende de diversos factores como clima, suelo, cosecha, etc. En cuanto al valor energético varia, esto es debido a que los carbohidratos son calculados restando 100 menos los porcentajes de humedad, proteínas, grasas y cenizas.

Tabla 14: Rendimiento en el proceso de obtención de la harina de algarroba.

Peso de vainas de algarroba	Peso de la harina obtenida	%Rendimiento
50	27.12	54.24

Fuente: Elaboración propia (2013).

En la Tabla 14 se observa el rendimiento obtenido de la harina de algarroba siendo este de un 54.24%, este resultado se asemeja al de Prokopiuk *et al.*,

2001, quién menciona, de la molienda y tamizado de las algarrobas secas de *Prosopis alba* y *P. pallida* se obtuvieron cuatro fracciones, con rendimientos en pulpa del 54,5% y 55%, respectivamente.

4.3. Características fisicoquímicas de los extractos obtenidos.

Tabla 15: Características fisicoquímicas de los extractos obtenidos en las diferentes diluciones.

CARACTERISTICAS	DILUCIONES (*)			A**
	1:3	1:4	1:5	
Sólidos solubles (°Brix)	23.6	19.5	15.7	16.5
Ph	5.41	5.49	5.42	5.2
Acidez titulable (% ácido sulfúrico)	0.179	0.177	0.169	0.1797
Densidad (g/m ³) a 20°C	1.078	1.072	1.072	1.066

Fuente: Elaboración propia (2013)

(*) Los resultados de la Tabla 15 están basados en el promedio de 3 repeticiones por cada evaluación. (Ver Anexo 11, Tabla 20).

A**: Caracterización del extracto azucarado para obtención de alcohol según López (1988).

En la Tabla 15 se aprecian los valores de las características fisicoquímicas de los extractos obtenidos para las diferentes diluciones, en la cual se observa que existe una diferencia significativa en comparación con lo reportado por López, 1988, quién siguiendo el proceso de fermentación del extracto azucarado a partir de frutos maduros seleccionados y trozados de 2 a 3 cm, una vez secadas procedió a la extracción de los azúcares utilizando agua como solvente en proporción de 1:4 obtuvo alcohol etílico de 95°.

Se observa que a mayor grado de dilución disminuye la cantidad de grados brix , si comparamos a dilución 1:4 según bibliografía tendríamos 16.5 °Brix sin embargo se obtiene según resultados en tabla 19.5 dependiendo de la naturaleza de la materia prima y el proceso al que haya sido sometido

4.4. Variación de la concentración de azúcar con respecto al tiempo en la fermentación final.

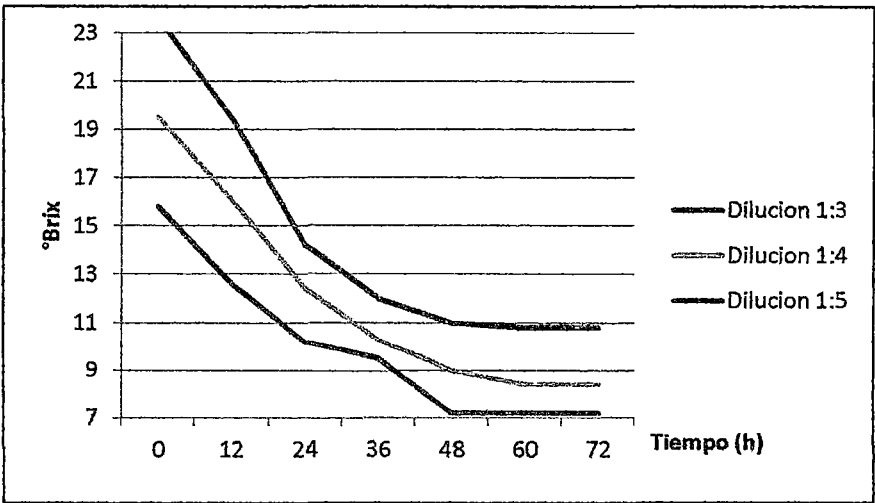
Tabla 16: Concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación final.

Tiempo (h)	°Brix (*)		
	1/3	1/4	1/5
0	23.6	19.5	15.8
12	19.5	16.1	12.6
24	14.2	12.4	10.2
36	12	10.3	9.5
48	11	9	7.2
60	10.8	8.4	7.2
72	10.8	8.4	7.2

Fuente: Elaboración propia (2013).

(*) Los resultados de la Tabla 16 están basados en el promedio de 3 repeticiones por cada evaluación. (Ver Anexo11, Tabla 21).

Figura 13: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación (Promedio).



Fuente: Elaboración propia (2013).

En la Tabla 16 y la Figura 15, se observa y expresa el valor promedio de cada dilución con respecto al tiempo, las cuales nos indica que a medida que el

tiempo incrementa el °Brix disminuye manteniéndose constante a 60 y 72 horas, La velocidad de crecimiento de las levaduras depende directamente de la concentración del sustrato. Este comportamiento se describe generalmente mediante la ecuación de Monod, (Boulton, *et al*, 1996). El modelo de Monod describe una curva de crecimiento, en la cual se presenta una primera etapa de adaptación al medio, 'fase lag', Luego se presenta un crecimiento exponencial que ocurre a una máxima velocidad, la duración de esta fase depende de la concentración inicial del sustrato limitante; así como de la habilidad del microorganismo para adaptarse a la disminución de la concentración de sustrato (Ribéreau, *et al.*, 2006). Luego de la fase exponencial, donde se tiene el máximo valor de biomasa, se da una fase estacionaria durante la cual algunas células se dividen mientras otras mueren, para finalmente llegar a la fase de muerte.

4.5. Variación del pH en la fermentación final

Tabla 17: Variación del pH en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.

Tiempo (h)	pH (*)		
	1:3	1:4	1:5
0	4.46	4.47	4.45
12	4.31	4.29	4.25
24	4.22	4.16	4.13
36	4.27	4.23	4.27
48	4.32	4.25	4.35
60	4.38	4.36	4.39
72	4.36	4.36	4.40

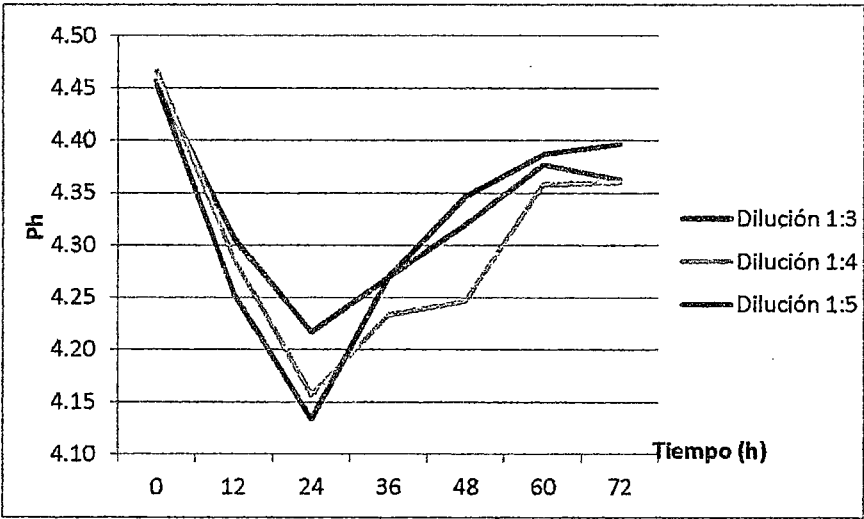
Fuente: Elaboración propia (2013).

(*) Los resultados de la Tabla 17 están basados en el promedio de 3 repeticiones por cada evaluación. (Ver Anexo 11, Tabla 22).

Como se muestra en la Tabla 17, en el tiempo 0 se acondicionó en pH a valores cercanos 4 – 4.5 donde según Tuite y Oliver, 1991, se obtiene mejor crecimiento y utilización de la glucosa.

Como se puede apreciar durante las 24 horas el pH desciende, lo cual demuestra una importante producción de ácidos orgánicos formados a partir de las proteínas del mosto, posteriormente el pH se incrementa manteniéndose luego constante. Esta variación en la segunda etapa es atribuida a la formación de productos secundarios (ésteres, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, alcoholes superiores, etc.) que influyeron notablemente en las características organolépticas de la bebida alcohólica. (Ribéreau, *et al.*, 2006).

Figura 14: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación (Promedio).



Fuente: Elaboración propia (2013).

En la Figura 16 se presentan la variación del pH promedio con respecto al tiempo de fermentación, muestreado cada 12 horas para las diferentes diluciones (1:3;1:4; 1:5), como se puede apreciar, para todo los casos el pH se mantiene entre un rango de 4.13 - 4.46, siendo un pH ácido, datos que se asemejan a lo reportado por Carballo, 2000, quién menciona que en los procesos de fermentación los pH deben estar controlados en rangos de 4 – 5 para reducir el riesgo de contaminación bacteriana. Dato que también lo corroboran (Mato, *et al.*, 2005) (Lamikarra, 1997); quienes mencionan que las bacterias, desarrollan un trabajo óptimo en un rango de pH de 6.5-7.5 mientras que las levaduras prefieren un ambiente ligeramente más ácido entre 4.0 y 5.0

4.6. Variación del contenido alcohólico en la fermentación final.

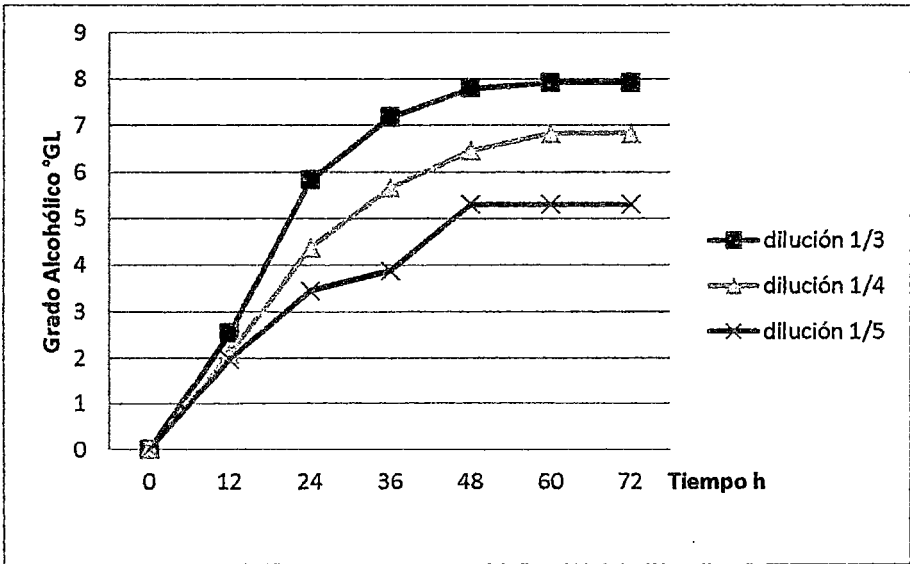
Tabla 18: Variación del grado alcohólico promedio en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.

Tiempo (h)	Grado Alcohólico °GL		
	1/3	1/4	1/5
0	0	0	0
12	2.54	2.09	1.97
24	5.82	4.37	3.45
36	7.18	5.66	3.88
48	7.8	6.46	5.3
60	7.92	6.83	5.3
72	7.92	6.83	5.3

Fuente: Elaboración propia (2013).

(*) Los resultados de la Tabla 18 están basados en el promedio de 3 repeticiones por cada evaluación. (Ver Anexo 11, Tabla 23).

Figura 15: Variación del grado alcohólico promedio en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.



Fuente: Elaboración propia (2013).

En las Tablas 18 se muestra el promedio de grado alcohólico obtenido de las diferentes diluciones El gráfico 17 muestra la producción de etanol a lo largo de

la fermentación, como se puede observar la producción de etanol es significativamente mayor durante las primeras horas de fermentación, esto es debido a la disponibilidad de sustrato en el medio e a medida que éste se va agotando las velocidades de producción disminuyen hasta alcanzar un estado estacionario.

Teóricamente se puede obtener a partir de 1 gramo de glucosa 0.511 g de etanol. Cuando se fermenta sustratos puros el rendimiento es del 95% y se reduce al 91% cuando se utilizan materias primas grado industrial. 100 gramos de glucosa pura producirán 48.4 gramos de etanol, 46.6 gramos de CO₂, 3.3 gramos de glicerol y 1.2 gramos de biomasa (células de levadura). Las levaduras usualmente demuestran un rendimiento de etanol de 0.42 g/g bajo condiciones ideales a partir de xilosa (Karimi, *et al.*, 2006), por lo tanto si comparamos los datos obtenidos tendríamos que por un consumo de 4.1 en ° Brix obtenemos 2.54 °GL en contenido de alcohol, dato que se asemeja a lo expuesto por Karimi, *et al.*, 2006.

Además se debe tener en cuenta que durante la fermentación influyen otros factores que pueden afectar el proceso de fermentación son el pH, temperatura, concentración de nutrientes y la aireación, entre otros. Uno de los criterios de mayor importancia para el éxito en los procesos de fermentación, es la selección de la cepa y el sustrato conveniente según Cañon y Aldama (1998), López, C. (1988) .(Kolb 2002).

4.7. Resultado de la evaluación sensorial de los tratamientos

Los datos obtenidos de los tratamientos en la evaluación sensorial, fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de varianza y la prueba de tukey con 5% de significancia. Anexo 13– Anexo 20.

Siendo el tratamiento elegido (D₂t₁) ya que mediante el análisis de varianza y la prueba de Tukey, resulto siendo significativo a un 5 %, en cuanto a los atributos olor y sabor ,para los demás tratamientos resulto no ser significativo por lo tanto se eligió el tratamiento D₂t₁ .Siendo los resultados los siguientes

A. OLOR:

Tabla 19: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.

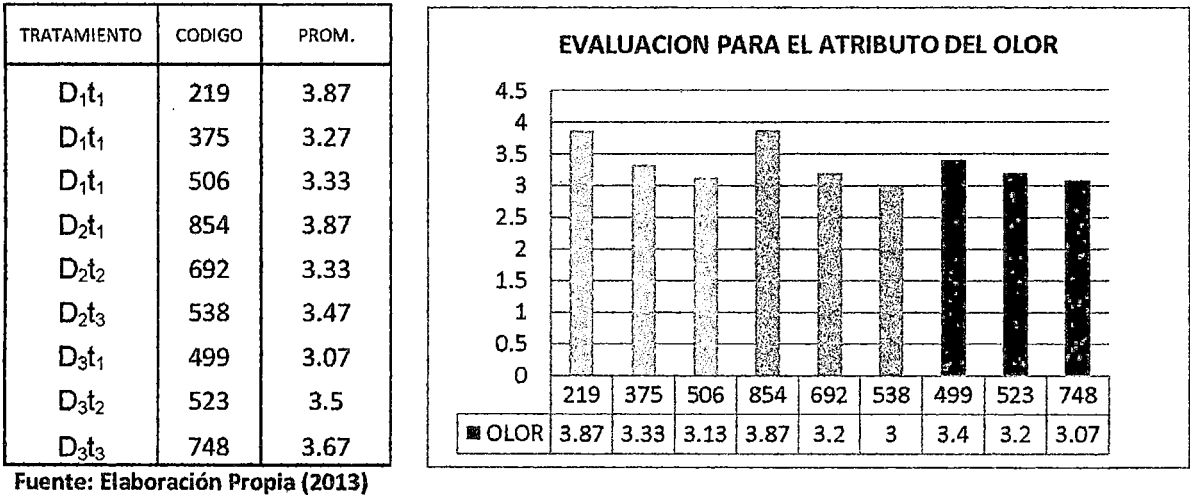


Tabla 20: Análisis de varianza para el atributo olor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	6.178	3.089	4.678	3.218
PANELISTAS	14	13.644	0.975	1.476	
ERROR	28	18.489	0.6603		
TOTAL	44	38.311			

Fuente: Elaboración Propia (2013)

Como se puede apreciar en la Tabla 20 el $F_c > F_t$, entonces se puede decir que en relación al Olor para esta evaluación según la escala hedónica aplicada, si hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

Aplicando la prueba de TUKEY:

$\Delta = 0.7349$

Tabla 21: Ordenamiento de medias para el olor.

Tratamientos	854(D ₂ T ₁)	692(D ₂ T ₂)	538(D ₂ T ₃)
Promedios	3.87	3.20	3.00
Clave	I	II	III

Fuente: Elaboración Propia (2013)

Tabla 22. Diferencias De Medias para el olor

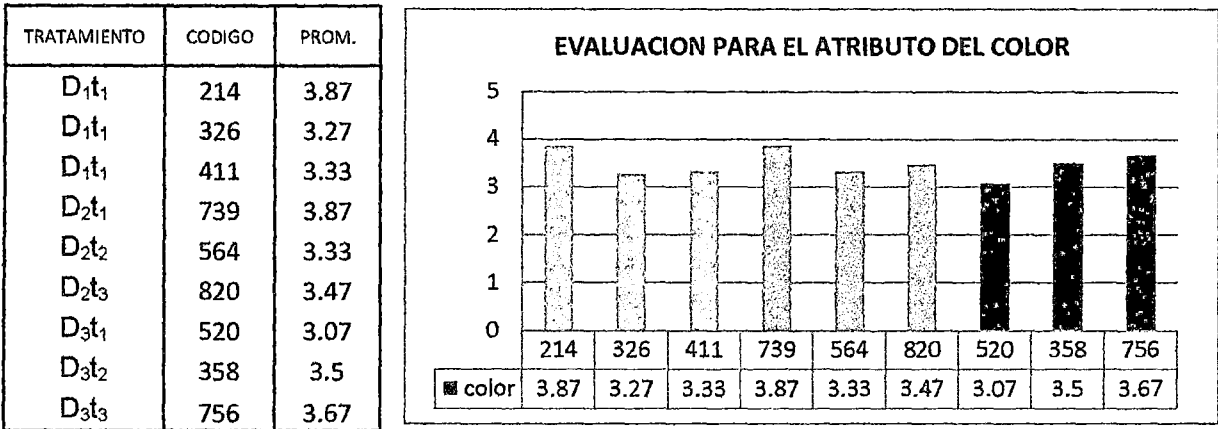
MEDIAS		854	692	538
		I	II	III
		3.87	3.2	3
538 III	3	0.87	0.2	0
692 II	3.2	0.67	0	
854 I	3.87	0		

Fuente: Elaboración propia (2013)

De acuerdo a los datos de la tabla 22 :0.87 es mayor al valor crítico ,entonces se afirma que al nivel de 5%, el tratamiento 854 , tiene diferencia significativa para el atributo Olor, es decir este tratamiento presenta un olor más aceptable para los panelistas como se muestra en la tabla 19 , en la cual se aprecia la puntuación promedio para el atributo del olor en todos los tratamientos de las 3 evaluaciones

B. COLOR:

Tabla 23: Resultados de la evaluación sensorial para el color.



Fuente: Elaboración propia (2013)

Tabla 24: Análisis de varianza para el atributo color.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	2.311	1.156	2.062	3.218
PANELISTAS	14	17.111	1.222	2.181	
ERROR	28	15.689	0.5603		
TOTAL	44	35.111			

Fuente: Elaboración propia (2013)

Como se puede apreciar en la Tabla 24, el $F_c > F_t$, entonces se puede decir que en relación al Color para esta evaluación según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

Aplicando la prueba de TUKEY:

$$\Delta = 0.6770$$

Tabla 25: Ordenamiento de medias para el color.

Tratamientos	739(D ₂ T ₁)	820(D ₂ T ₂)	564(D ₂ T ₃)
Promedios	3.87	3.33	3.47
Clave	I	II	III

Fuente: Elaboración propia (2013)

Tabla 26. Diferencias De Medias para el color

MEDIAS		739	564	820
		I	II	III
		3.87	3.47	3.33
739 III	3.33	0.54	0.14	0
820 II	3.47	0.4	0	
564 I	3.87	0		

Fuente: Elaboración propia (2013)

Se puede apreciar que cada diferencia de media que se muestra en la Tabla 26 es menor al valor crítico , entonces se afirma que al nivel de 5%, los tratamientos no difieren entre sí, por lo que para este atributo se considera no significativo. Se puede observar también que las respuestas de los panelistas estuvieron en un promedio de 3 puntos, la cual responde a la no significancia de los tratamientos como muestra la tabla 23.

C. SABOR:

Tabla 27: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor

TRATAMIENTO	CODIGO	PROM.
D ₁ t ₁	252	2.13
D ₁ t ₁	356	1.87
D ₁ t ₁	185	1.67
D ₂ t ₁	428	3.07
D ₂ t ₂	672	2.13
D ₂ t ₃	295	1.87
D ₃ t ₁	625	2.93
D ₃ t ₂	532	2.4
D ₃ t ₃	752	2.33

Fuente: Propia de los autores (2013)

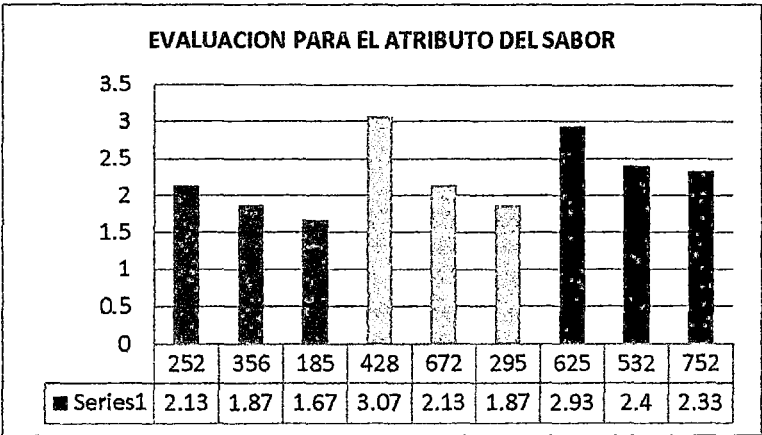


Tabla 28: Análisis de varianza para el atributo sabor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	11.911	5.956	6.392	3.218
PANELISTAS	14	20.311	1.451	1.557	
ERROR	28	26.089	0.9317		
TOTAL	44	58.311			

Fuente: Elaboración propia (2013)

Como se puede apreciar en la Tabla 28 el $F_c > F_t$, entonces se puede decir que en relación al Sabor para esta evaluación según la escala hedónica aplicada, si hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

Aplicando comparación múltiple de TUKEY

$$\Delta = 0.8730$$

Tabla 29: Ordenamiento de medias para el sabor.

Tratamientos	428 (D ₂ T ₁)	672(D ₂ T ₂)	295(D ₂ T ₃)
Promedios	3.07	2.13	1.87
Clave	I	II	III

Fuente: Elaboración propia (2013)

Tabla 30. Diferencias De Medias para el atributo Sabor

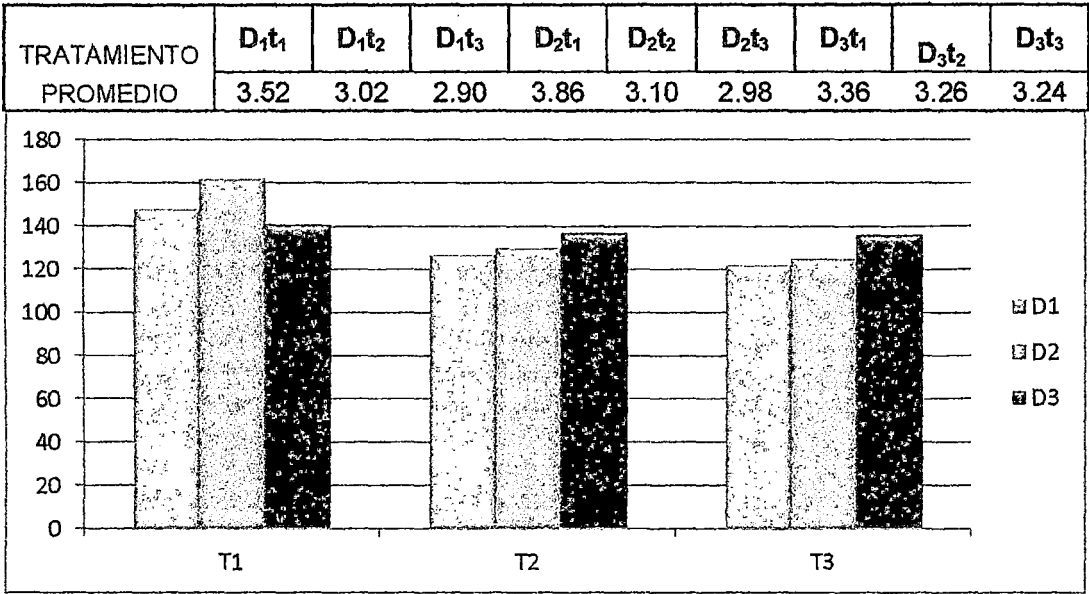
MEDIAS		428	672	295
		I	II	III
		3.07	2.13	1.87
428 III	1.87	1.2	0.26	0
672 II	2.13	0.94	0	
295 I	3.07	0		

Fuente: Elaboración propia (2013)

De acuerdo a los datos de la Tabla 30: 1,2 y 0.94 son mayores al valor crítico, entonces se afirma que al nivel de 5%, los tratamientos 428 y 672, poseen diferencia significativa para el atributo sabor, es decir estos tratamientos presenta un sabor más agradable, sin embargo el tratamiento más aceptado por los panelistas fue el 428 como se muestra en la tabla 27.

En general si tenemos en cuenta los tres atributos olor, color y sabor para obtener la mayor aceptabilidad del producto y englobando los tres atributos mencionados se obtendría la siguiente tabla:

Tabla 31: Resultados de la evaluación sensorial para los tres atributos (olor , color y sabor)



Fuente: Elaboración propia (2013)

Entonces como se muestra en la Tabla 31 el mayor grado de aceptabilidad, obtenido estadísticamente mediante escala hedónica, corresponde al tratamiento D2 T1 .

4.8. Análisis organoléptico y fisicoquímico del tratamiento elegido.

El tratamiento que resultó elegido mediante el análisis sensorial fue el tratamiento D₂t₁ (relación harina de algarroba/agua ¼; tiempo 24 horas), ya que resultó significativo en el análisis de varianza que se realizó mediante la prueba de Tukey, esta muestra fue llevada a un análisis proximal y microbiológico, en Anexo N° 3 se muestran el resultado de los análisis organolépticos y fisicoquímicos obtenidos de la muestra elegida. Estos datos comparados con la NORMA TECNICA PERUANA .Cerveza y la Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense ,se encuentran dentro de los límites permitidos ya que posee un grado alcohólico de 4., grado que califica a una bebida como alcohólica , además el contenido en proteína según NTP .Cerveza debe contener como

mínimo 0.15% de proteína (Nx6.25) por peso ,dato que está dentro del obtenido siendo 3.99% para la bebida alcohólica de algarroba .Además el porcentaje de pH resulto con un valor de 4.16 ,valor que se encuentra dentro de los parámetros de la La Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense, que nos indica que debe de contener entre 3 – 4.8 % en Ph.

4.9. Análisis Microbiológico del tratamiento elegido.

Según los resultados obtenidos del análisis microbiológico de la muestra elegida de licor de algarrobo presenta buena calidad microbiológica. En el Anexo N° 4 se observan los resultados de los análisis microbiológicos de la bebida alcohólica de algarroba, comparando los resultados obtenidos con lo establecido en la NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO. (MINSA, 2003).y la NORMA NICARAGUENSE CERVEZA ,los datos obtenidos se encuentran dentro de los parámetros , es decir el producto final presenta 40 UFC/M de Bacterias Mesófitas Viables (BMV), lo cual según Normativa deberá contener un máximo de 100 UFC/m de BMV , por lo tanto la bebida está dentro de los parámetros y por ende apta para consumo humano , además poseer bacterias Coliformes , Patógenas , Enterococos y levaduras Contaminantes AUSENTES.

Análisis realizado después de 4 meses de haber realizado el producto.

V. CONCLUSIONES

- Se determinó los parámetros de dilución y tiempo de fermentación para obtener una bebida alcohólica utilizando harina de algarroba (*Prosopis Pallida*), mediante el análisis sensorial de la prueba de Tukey , utilizando para ello escala hedónica de 5 puntos, teniendo como mejor tratamiento D₂t₁(dilución 1/4, tiempo de fermentación 24h).
- Se caracterizó fisicoquímicamente las vainas de algarroba tanto en base seca como base húmeda, obteniéndose 13.83%en humedad,8.7% en proteína, 0.87% grasa, 23.6 % en fibra , 3..32 en cenizas , 87.11 %en carbohidratos ,4.38% de azúcares reductores, 42.59% de azúcares totales respectivamente en base seca , mientras que en base húmeda se obtuvo 11.8%en humedad,8.01% en proteína , 0.86% en grasa, 20.74 % en fibra , 3..22 en cenizas , 76.11 %en carbohidratos ,4.11% de azúcares reductores, 36.47% de azúcares totales en base seca.
- Se caracterizó fisicoquímicamente de la harina de algarroba tanto en base seca como base húmeda, obteniéndose en base húmeda : 5.46% de 12.74% de proteínas, 2.14% de grasa, 3.01 de cenizas, 24.47% de fibra, 76.65% de carbohidratos, 376.82% de Energía en Kcal , y en base seca se obtuvo 5.78% de 14.65% de proteínas, 2.19% de grasa, 3.1 de cenizas, 32.39% de fibra, 74.28% de carbohidratos, 375.43% de Energía en Kcal, cumpliendo de esta manera con los requisitos fisicoquímicos expuestos en la Norma Técnica Peruana HARINA DE ALGARROBA .Anexo N°5
- Se evaluó las características sensoriales de la bebida alcohólica de algarroba, después de un periodo de 120 días de almacenamiento, se sometió a un panel semi entrenado donde se evaluaron 3 características sensoriales (color, olor y sabor), teniendo mayor aceptación el tratamiento D₂t₁ (dilución 1/4 tiempo de fermentación 24h).
- Se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica del tratamiento elegido D₂t₁, reportándose una densidad 1.03176, acidez de 0.39% expresado como Ac.. Cítrico(g/l) , 79.8% de humedad, extracto seco de 20.20%, proteínas de 3.99%, grasa de 0.3%, carbohidratos de 14.96%, cenizas de 0.95% , valor

78.50 Kcal/100ml , valor nutricional 03,92, Brix 12.20 , Ph 4.16 , además se obtuvo 4.37 en grados alcohólicos , con sabor dulce acido , color oscuro , olor característico aspecto homogéneo y consistencia fluida

- La determinación de la carga microbiana de la bebida alcohólica de algarroba como bacterias (Coliformes Termotolerantes, Coliformes Fecales, Shigella, Salmonella, Escherichia Coli), Levaduras y Mohos, fue reportada como exenta ,sin embargo para las BMAV(bacterias Mesofilas aerobias viables hubo recuento en la dilución 10^{-2} de 40 UFC/ml la cual resulta aceptable para sustratos alcohólicos, por lo tanto la bebida alcohólica de algarroba presenta buena calidad microbiológica y es apta para el consumo humano.

VI. RECOMENDACIONES:

- Realizar la cuantificación de taninos y Polifenoles utilizando diferentes métodos espectrofotométricos.
- Estudiar el efecto de agregar fosfato de amonio en porcentajes tales como 0.05, 0.1, 0.15 %, sobre las características organolépticas de licor.
- Estudiar el efecto del ácido cítrico y ascórbico como reguladores del pH en las características organolépticas del licor de algarroba.

VII. BIBLIOGRAFIA:

- Anzaldúa, M.A. (1994). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Zaragoza, España: Editorial ACRIBIA.
- A.O.A.C. (1995). Official method of analysis of Association of Official Analytical Chemists International. Virginia, USA 16th Edition. Arlington.
- A.O.A.C. (1998). Manual of official Methods of Analyses of the Association of Official Analytical Chemists. USA. 5th edition.
- Aparicio, S. (2004) "Cinética del proceso de fermentación alcohólica del mosto de cerveza".
- Ariza B. y Gonzales L. (1997). Producción de proteína unicelular a partir de levaduras y melaza de caña de azúcar. Tesis de pregrado Bacteriología. Pontificia universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Basilio P.D. (2004). Sucedáneo del café a partir de algarroba (*Prosopis alba Griseb*). Tesis Doctoral Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. España.
- Bayarri, S., Marti, M.A.R., Carbonell, I. Y Costell, E.(2012) Identifying drivers of liking for commercial spreadable cheeses with different fat content. Journal of Sensory Studie, vol. 27, no. 1, p. 1-11.
- Brako L. y Zarucchi J.L. (1993). Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.
- Bravo, L.; Grados, N.; Saura-Calixto, F. (1994). Composition and potential uses of mesquite pods (*Prosopis pallida*): comparison with carob pods (*Ceratonia siliqua* L). Journal of the Sciences of Food and Agriculture.
- Boulton, B., Singleton, L., Bisson, F., Kunkee, E. (1996). Principles and practices of winemaking. New York.

- Burghardt A, Brizuela M, Mom M, Albán L, Palacios R. (2010). "Análisis numérico de las especies de *Prosopis* L. (*Fabaceae*) de las costas de Perú y Ecuador".
- Burkart, A. 1992. Las leguminosas argentinas, silvestres y cultivadas. Ediciones Acme Agency, Buenos Aires
- Cañon G., Aldama O., (1998). Estudio de la fermentación alcohólica por cochada empleando reactores de lecho fijo. Proyecto de grado para optar el título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Carballo F., (2000). Microbiología Industrial: microorganismos de interés industrial. España. Editorial Acribia.
- Carenzo S. y Quiroga L. (2006). Entre el olvido y el rescate: Aportes para la reconstrucción de las trayectorias sociales de la Algarroba en el chaco formoseño. Apunte de cátedra Socioantropología – Escuela de Nutrición.
- Carpenter R.P.; Lyon, D.H. (2002). Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos. Zaragoza. España. Editorial Acribia.
- Caylak, B. y Vardar, F. (1998). Comparison of Different Production Processes for Bioethanol. Turk J Chemistry.
- Celis, A. (1995). Los algarrobos - Obra auspiciada por CONCYTEC
- Clavijo, J. (1991). Uso de la pulpa de algarroba para la obtención de etanol. Tesis de Título. Facultad de Ingeniería. Universidad de Piura, Perú.
- Cliff, M.A., M. King . 1999 .Use of Principal Component Analysis for the Evaluacion of Judge Performance at Wine Competitions. Journal of Wine Research 10:25 – 32
- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO. (1998). Recuperado en: <http://www.anmat.gov.ar/CODIGO/CAA1.HTM>. Visitado: 12/12/2013.

- Coirini, R. y Karlín U., 1999. El fruto del algarrobo en la alimentación animal, en el Chaco argentino: Estudio económico. En: Cuba, A., Silva, A., Cornejo, C. (eds). Bosques Secos y Desertificación. Memorias del Seminario Internacional, Lambayeque, Perú.
- Clark, S., Costello, M., Drake, M. Y Bodyfelt, F.W.(2009) The sensory evaluation of dairy products. 2nd ed. New York, NY: Springer, , 573 p.
- Cruz, G. (2002). Production and characterization of *Prosopis* seed galactomannan. PhD. Thesis, Dissertation N°13153, ETH Zurich.
- Cuba A., 1999. Desarrollo rural sostenible en los bosques secos de la Costa Norte del Perú: El Proyecto Algarrobo. En: Cuba, A., Silva, A., Cornejo, C. (eds). Bosques Secos y Desertificación. Memorias del Seminario Internacional, Lambayeque, Perú.
- Díaz R. (2001). Tesis "Propuesta Técnico – económica para la producción industrial de harina de algarroba". Universidad de Piura. Facultad de Ingeniería. Piura.
- Doran, P. (1995). Principios de Ingeniería de los Bioprocesos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Drake, M.A. (2007) Sensory analysis of dairy foods. Journal of Dairy Science, vol. 90, no. 11, p. 4925-4937.
- Espinosa M. J. (2007). "Evaluación sensorial de los alimentos". La Habana. Cuba. Editorial Universitaria.
- Estrella, Eduardo. (1988). El pan de América. Etnohistoria de los alimentos aborígenes en el Ecuador. Editorial Abya-Yala. Quito, Ecuador
- Fagg, C.; Stewart, J. (1994). "The value of Acacia and Prosopis in arid and semi-arid environments. Journal of Arid Environments".
- Felker, P.; Grados, N.; Cruz, G.; Prokopiuk, D. (2003). "Economic assessment of production of flour from *Prosopis alba* and *Prosopis pallida* pods for human food applications. Journal of Arid Environments".

- Figueroa, G. y Dantas M.; (2006). Recolección, procesamiento y consumo de frutos silvestres en el noroeste semiárido argentino. Casos actuales con implicancias arqueológicas. Revista de Jóvenes Investigadores en Arqueología. Buenos Aires. Argentina.
- Galera F.M. (2000). Las especies del género *Prosopis* (algarrobos) de América Latina con especial énfasis en aquellas de interés económico. Departamento de Agricultura y Protección del Consumidor, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Recuperado en: <http://www.fao.org/docrep/006/ad314s/ad314s00.htm> Visitada el [03.10.2011].
- García D., Lozano L. J., Sánchez S., (2010). "Fabricación de bioalcohol a partir de la vaina del algarrobo". Dpto. Ingeniería Química y Ambiental, Universidad Politécnica de Cartagena. Colombia.
- Grados, N.; Cruz, G. (1994). La algarroba, Perspectivas de utilización industrial. Universidad de Piura, Perú, Serie de Química N° 2.
- Grados N. Cruz G. (1996). New approaches to industrialization of algarrobo (*Prosopis pallida*) pods in Peru. En: Felker P. Moss J. Proceedings of the workshop: "Prosopis: semiarid fuelwood and forage tree, building consensus for the disenfranchised". Texas. USA.
- Gushiken S., Acuña T., Torres J. (2001) "Dinámica poblacional de los algarrobales (*Prosopis pallida*) y El Niño en la Costa Norte del Perú". En: Tarazona, W. E. Catillo De Marunda ,2001."El niño en América Latina: Impactos Biológicos y Sociales". Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Lima, Perú.
- Harris J.C., Landeras G., Alfonso M., Pasiecznik N.M., Ramirez L. (2003). Identification of *Prosopis juliflora* and *Prosopis pallida* accessions using molecular markers. Biodiversity and Conservation.
- Hough, J. (2001). "Biotecnología de la cerveza y de la malta". Zaragoza-- España: Editorial Acribia

- Hutkins, Robert. (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*, USA Ed. Blackwell Publishing.
- INRENA. (2009). "Consolidación y Validación del Manejo Integral de Los Bosques Secos de la Costa Norte del Perú". Lima. Perú
- Jones, L.V., Peryam, D.R. Y Thurstone, L.L.(1955) Development of a scale for measuring soldiers'food preferences. *Journal of Food Science*, vol. 20, no. 5, p. 512-520.
- Karimi, K., Emtiazi, G y Taherzadeh, M. 2006. Production of etanol and mycelial biomasa from rice straw hemicellulose hydrolyzate by *Mucor indicus*. *Process Biochemistry*.
- Kolb,Erich Vinos de Frutas . Elaboracion Artesanal e Industrial(1999).Zaragiza.España ,.8ª.edición .Editorial .Acribia s.a.
- Lamikarra, O. (1997). "Changes in Organic Acid Composition during Fermentation and Aging of Noble Muscadine Wine." *Journal Agric Food Chem*
- Lawless, H. y Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food*. USA: Springer.
- López, C. (1988). "Obtención de alcohol etílico a partir del fruto de algarrobo (P.pallida)". Tesis Ing, Industrias Alimentarias. UNA. La Molina. Revista Ciza. Lima.
- Madeiros, Eduardo.(1988) Bebidas Moçambicanas de fabrico caseiro. Estudos 5. Arquivo Histórico de Moçambique. Maputo (Mozambique).
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. Y Parker, J. (2004). *Brock biología de los microorganismos*, Madrid, España. 10ma edición. Editorial Prentice-Hall.
- Mato, I., Suárez-Luque, Silvia., Hudobro, José. (2005). "A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines." *Food Research International*
- Mendoza, Jaime. (1957). *El Macizo Boliviano*. Editor: Ministerio de Educación y Bellas Artes. La Paz (Bolivia).

- MINSA, 2003. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humana. Resolución ministerial N° 615- 2003-sa/dm.
- Mom M. P., Burghardt A. D., Palacios R. A., Alban L. (2002). Los algarrobos peruanos: *Prosopis pallida* y su delimitación.
- Montes, A., (1981). Bromatología. Editorial Universitaria Buenos Aires, Argentina
- NTP 211.040 (2003). Bebidas alcohólicas. Método de ensayo determinación de acidez. 6ª Edición. Lima. Perú.
- Ospina A. y Palacios M. (1994) "Efecto del cultivo de levaduras sobre la carga orgánica de los efluentes de SUCROMILES S.A.". Tesis pregrado Microbiología. Universidad del Valle, Cali. Colombia.
- Oliszewski, N.(1999). La importancia del algarrobo en el Campo del Pucará (Andalgalá, Catamarca) durante el Período Formativo. En En los tres reinos: prácticas de recolección en el cono sur de América, editado por C. A. Aschero, M.A. Korstanje y P. M. Vuoto, pp. 171-177. Ediciones Magna Publicaciones, Tucumán.
- Owen P. W., (1991). "Biotecnología de la fermentación". Zaragoza. España: Editorial Acribia.
- Peryan, D.R. Y Haynes, J.G. (1957) Prediction of soldiers' food preferences by laboratory methods. Journal of Applied Psychology, vol. 41, no. 1, p. 2-6.
- Prokopiuk, D.; Cruz, G.; Grados, N.; Garro, O; Chiralt, A. (2001). "Estudio Comparativo entre Algarroba Argentina (*Prosopis alba*) y Algarroba Peruana (*Prosopis pallida*)". Series de Ciencia e Ingeniería de Alimentos, Investigación del Postgrado del Instituto de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos. Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia, Valencia
- Rajaram, N.; Janardhanan, K. (1991). "Studies on the underexploited tree pulses, *Acacia catechu* Willd, *Parkinsonia aculeata* L. and *Prosopis chilensis*

(Molina) Stunz: Chemical composition and antinutritional factors". Food Chemistry.

- Ribéreau, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2006). Handbook of enology: The microbiology of wine and vinifications, John Wiley & Sons.
- Roig, F. (1993 a). Informe Nacional para la Selección de Germoplasma en Especies de *Prosopis* de la República Argentina. En: Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (eds). Conservación y Mejoramiento de Especies del Género *Prosopis*. Quinta Reunión Regional para América Latina y el Caribe de la Red de Forestación del Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Mendoza, Argentina.
- Roig, F. (1993 b). Aportes a la Etnobotánica del Género *Prosopis*. En: Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (eds). Conservación y Mejoramiento de Especies del Género *Prosopis*. Quinta Reunión Regional para América Latina y el Caribe de la Red de Forestación del Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Mendoza, Argentina.
- Raimondi, Antonio. (1929). El Perú. Itinerarios de Viajes. Versión literal de las libretas originales. Imprenta Torres Aguirre. Lima, Perú
- Rozycki, V. Baigorria, C. Bernardi, C. Zannier, M. Osella C. (1998). Optimización de Molienda de Frutos de *Prosopis alba* y Ensayos de Panificación. En: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Simposio Iberoamericano sobre Proteínas para Alimentos .Buenos Aires.
- Ruiz L., Rodriguez H., Contreras E., (2007). "Diseño de biorreactores para la fermentación en medio sólido". Revista mexicana de Ingeniería Química. Volumen VI.
- Ruiz, W.; Cruz, G.; Grados, N. (1999). Aprovechamiento integral de la algarroba (*Prosopis sp.*) como medio para impulsar y promover el desarrollo sostenible de los bosques secos de la Región Grau.

- Saint Pierre , B. (2000) .El degustador. El jurado del análisis sensorial. Herramientas del análisis sensorial . Analisis sensorial de los vinos . Enologia . Fundamentos Científicos y Enologicos .Mundi Prensa. AMV Ediciones.
- Salazar, I. (1993). Cuantificación de taninos en cada una de las fracciones del fruto del algarrobo. Tesis de Título Facultad de Ingeniería. Universidad de Piura, Perú.
- Saura, F.; Clavijo, J.; Abia, R. (1991).Características químicas del endocarpio del fruto del algarrobo piurano. Boletín de la Sociedad Química del Perú.
- Schutz, H.G. Y Cardello, A.V. (2001) labeled affective magnitude (LAM) scale for assessing food liking/disliking. Journal of Sensory Studies, vol. 16, no. 2, p. 117-159
- Silva S. (1990). Prosopis juliflora DC in Brazil". In: "The Current State of Knowledge on Prosopis juliflora. Rome, Italy. (Eds.) M. A. Habit and J. C. Saavedra. FAO.
- Smith J. E., (2006).Emeritus profesor of Applied Microbiology, University of Strathclyde, Glasgow and Chie.
- Stone, H. Y Sidel, J.L.(2004) Sensory evaluation practices. Amsterdam ; Boston: Elsevier Academic Press,
- Traskauskas, C.; Glibota, G. y Camprubi, G. (2001). El desarrollo de nuevos productos alimenticios en la economía regional Chaqueña. Recuperado de <http://www.unne.edu.ar/cyt/2001/7-Tecnologicas/T-067.pdf>.
- Tronconi, G. (2003).Fermentaciones aplicadas a la industria de los alimentos universidad del Valle contribución a la II Muestra Agroindustrial, universidad del cauca, Facultad de ciencias agronómicas Popayan.Recuperadodewww.revistaindustriyalimentos.com/r20/tecnologia htm-21k
- Tuite,M. y Oliver, S. (1991). *Saccharomyces*. New York, Estados Unidos. Editorial Plenum Press.

- Vásquez, Mario. (1967) La chicha en los países andinos. América Indígena, Vol. XXVII.
- Vincent V. M., Alvarez S., Zaragoza J. L. (2006). Química Industrial Orgánica. España: Editorial Politécnica de Madrid.
- Vijayakumari, K.; Siddhuraju, P.; Janardhanan, K. (1997). Effect of domestic processing of the levelsof certain antinutrients in *Prosopis chilensis* (Molina) Stunz seeds. Food Chemistry.USA.
- Vilela, J., (1999). Comportamiento del algarrobo (*Prosopis pallida*) en tres ecozonas del norte del Perú. En: Bosques Secos y Desertificación. Memorias del Seminario Internacional, Lambayeque, Perú.
- Vilanova de la Torre , M.(1999). Estudio de la sensibilidad olfativa , como entrenamiento previo a la Cara de un grupo de alumnos de Centro Superior de Hostileria de Galicia. Viticultura /Enología Profesional.
- Vigneau, E., Endrizzi, I. Y Qannari, E.M.(2001) Finding and explaining clusters of consumers using the CLV approach. Food Quality and Preference, vol. 22, no. 8, p. 705-713.
- Watts, B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E. Y Elias,L.G. (1989)Basic sensory methods for food evaluation. Ottawa, Ont., Canada: International Development Research Centre, 170 p.
- Wold, S., Sjostrom, M. Y Eriksson, L.(2001) PLS-regression: a basic tool of chemometrics. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2001, vol. 58, no. 2, p. 109-130.
- Yopez Y., (1995) .Selección de una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* con alta productividad de etanol y que tolere mayores niveles de azúcar que los usados en la planta alcoquímica Sucromiles S.A. Tesis de maestría. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia.
- Zaldivar, J., Nielsen, J. y Olsson, L. (2001). Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha de evaluación sensorial.

Nombre:		Fecha:	
Evalué usted. Mediante un análisis Sensorial las muestras presentadas teniendo en cuenta la siguiente escala:			
Me gusta mucho: 5			
Me gusta poco: 4			
No me gusta ni me molesta: 3			
Me disgusta un poco: 2			
Me disgusta mucho: 1			
	Atributo a evaluar		
MUESTRA	OLOR		
219			
375			
506			
854			
692			
538			
499			
523			
748			
OBSERVACIONES:			

Fuente: Elaboración propia (2013).

Nombre:		Fecha:	
Evalué usted. Mediante un análisis Sensorial las muestras presentadas teniendo en cuenta la siguiente escala:			
Me gusta mucho: 5			
Me gusta poco: 4			
No me gusta ni me molesta: 3			
Me disgusta un poco: 2			
Me disgusta mucho: 1			
	Atributo a evaluar		
MUESTRA	COLOR		
214			
326			
411			
739			
564			
820			
520			
358			
756			
OBSERVACIONES:			

Fuente: Elaboración propia (2013).

Nombre:		Fecha:	
Evalué usted. Mediante un análisis Sensorial las muestras presentadas teniendo en cuenta la siguiente escala:			
Me gusta mucho: 5			
Me gusta poco: 4			
No me gusta ni me molesta: 3			
Me disgusta un poco: 2			
Me disgusta mucho: 1			
		Atributo a evaluar	
MUESTRA		SABOR	
252			
356			
185			
428			
672			
295			
625			
532			
762			
OBSERVACIONES:			

Fuente: Elaboración propia (2013).

Anexo 2

Norma Técnica Peruana BEBIDAS ALCOHOLICAS. Cerveza
Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense BEBIDAS FERMENTADAS. CERVEZA.
ESPECIFICACIONES

PERU NORMA TECNICA NACIONAL	BEBIDAS ALCOHOLICAS Cervezas	ITINTEC 213.014 Febrero 1973
-----------------------------------	-------------------------------------	------------------------------------

NORMAS A CONSULTAR

ITINTEC 209.058	Norma general para el rotulado de los alimentos envasados.
ITINTEC 213.003	Bebidas alcohólicas - Cervezas, Método de arbitraje para determinar el contenido de alcohol en cervezas.
ITINTEC 213.008	Bebidas alcohólicas - Cervezas. Método de arbitraje para determinar la acidez total en cervezas.
ITINTEC 213.010	Bebidas alcohólicas - Cervezas. Método para determinar la acidez volátil en cervezas.
ITINTEC 213.012	Bebidas alcohólicas - Cervezas. Método de arbitraje para determinar el contenido total de fósforo en cervezas.
ITINTEC 213.015	Bebidas alcohólicas - Cervezas. Extracción de muestras
ITINTEC 213.020	Cervezas - Determinación del extracto aparente
ITINTEC 213.023	Cervezas - Método de referencia para determinar el contenido de aire y de bióxido de carbono en cerveza envasada en botella y latas.
ITINTEC 213.030	Cervezas - Método para determinar el contenido de nitrógeno total en cervezas, expresado como proteínas.

1.- OBJETO

- 1.1 La presente Norma se refiere a la definición, clasificación y métodos de ensayo, así como a los requisitos que deben cumplir las cervezas.
- 1.2 Las cervezas importadas deben cumplir los requisitos señalados en la presente Norma.

2.- DEFINICIONES Y CLASIFICACION

- 2.1 Cerveza.- Es la bebida resultante de la fermentación alcohólica obtenida por la acción de la levadura cervecera (*Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces carlsbergensis*), del mosto preparado de malta y agua, con el agregado de lúpulo o su extracto natural, con o sin la adición del bióxido de carbono producido por la fermentación natural y con o sin la adición de otros productos aptos para el consumo humano.
- 2.2 Malta.- Con el nombre de malta se entiende al grano de cebada sometido a germinación y ulteriormente desecado.
 - 2.2.1 Las maltas de otros cereales deberán denominarse de acuerdo con su procedencia: malta de trigo, de maíz, etc.
- 2.3 Adjuntos cerveceros.- Son aquellos cereales malteados o no, almidones o azúcares o productos que los contengan, aptos para el consumo humano que al utilizarse juntamente con la malta, en la elaboración de la cerveza, contribuyen a hacer de ésta una bebida más clara, con mayor cuerpo y mejor estabilidad.
- 2.4 Las cervezas se clasifican en:
 - 2.4.1 Cerveza natural o simplemente cerveza.- Es la que ha sido elaborada (ver 2.1) a base de malta de cebada en una proporción no menor del 65% del peso total de materias primas sólidas y con la adición de

adjuntos cerveceros. El extracto original no debe ser menor de 10° Plato.

- 2.4.2 Cerveza liviana. - Es la que ha sido elaborada (Ver 2.1) a base de malta de cebada en una proporción no menor del 55% del peso total de materias primas sólidas y con la adición de adjuntos cerveceros. El extracto original no debe ser menor de 8° Plato ni mayor de 9,5° Plato.

3.- ELABORACION

- 3.1 Para la elaboración de cerveza, sólo se permite el empleo de agua potable.
- 3.1.1 El agua de braseado puede ser corregida mediante tratamientos que no dejen residuos nocivos a la salud.
- 3.2 Sólo puede emplearse materias primas en buen estado de conservación.
- 3.3 Puede emplearse enzimas proteolíticas tales como: papayotina (papaína), pepsina, ácido tánico de calidad autorizada, hasta un máximo de 10 g por hectolitro y otros estabilizadores previamente autorizados.
- 3.4 Pueden adicionarse como agentes antioxidantes.
- 3.4.1 El ácido ascórbico o su sal de sodio en una proporción máxima de 6 gramos por hectolitro calculado como ácido ascórbico.
- 3.4.2 Sales productoras de SO₂ en la proporción máxima de 4 gramos por hectolitro calculados como SO₂ total.
- 3.5 La coloración se puede obtener únicamente por caramelización de la malta, por concentración del mosto o por torrefacción de la malta.
- 3.6 El empleo de cualquier otro ingrediente no nocivo debe ser previamente autorizado por la entidad oficial competente.
- 3.7 En la elaboración de cervezas está prohibido, de manera especial, el agregado de:
- 3.7.1 Alcohol
- 3.7.2 Saponinas o sustancias espumígenas
- 3.7.3 Edulcorantes artificiales
- 3.7.4 Sucedáneos del lúpulo u otros principios amargos.
- 3.7.5 Materias colorantes diferentes a las mencionadas en 3.5
- 3.7.6 Sustancias conservadoras.

4.- REQUISITOS

- 4.1 Las cervezas deberán satisfacer los siguientes requisitos:
- 4.1.1 No contener más de 6% de alcohol en volumen.
- 4.1.2 No presentar más de 0,06% de acidez volátil expresada como ácido acético.
- 4.1.3 Presentar una acidez total no mayor de 0,3 % expresada como ácido láctico.
- 4.1.4 Contener un mínimo de 0,3 % de anhídrido carbónico por peso.
- 4.1.5 Contener un mínimo de 0,03 % de ácido fosfórico por peso. 0
- 4.1.6 Contener un mínimo de 0,15 % de proteínas (N x 6,25) por peso
- 4.1.7 El extracto aparente mínimo será 1,8° Plato.

- 4.2 Las cervezas deberán ser completamente limpias al momento de su expendio, no debiendo contener cuerpos extraños.
- 4.3 La cerveza alterada o afectada por enfermedades o por defectos de sus materias primas, deberá ser inutilizada en el acto.

5.- EXTRACCION DE MUESTRAS

- 5.1 Las muestras se extraerán de acuerdo a la Norma INTITEC "Bebidas Alcohólicas - Cervezas - Extracción de muestras".

6.- MÉTODOS DE ENSAYO

- 6.1 Las muestras extraídas para efectuar los ensayos se preparan de conformidad con la Norma INTITEC "Bebidas Alcohólicas - Cervezas - Preparación de la muestra para Análisis".
- 6.2 En caso de arbitraje, certificación o sello de conformidad con Norma, se deben emplear los siguientes métodos de ensayo:
 - 6.2.1 Para determinar el contenido de alcohol en volumen, se usa la Norma Técnica Nacional 213.003 "Bebidas Alcohólicas - Cervezas. Método de Arbitraje para Determinar el Contenido de Alcohol en Cervezas".
 - 6.2.2 Para determinar la acidez volátil, se usa la Norma Técnica Nacional 213.010 "Bebidas Alcohólicas - Cervezas. Método para Determinar la acidez Volátil en Cervezas".
 - 6.2.3 Para determinar la acidez total, se usa la Norma Técnica Nacional 213.008 "Bebidas Alcohólicas - Cervezas. Método de Arbitraje para Determinar la Acidez Total en Cervezas".
 - 6.2.4 Para determinar el anhídrido carbónico, se usa la Norma Técnica Nacional 213.023 "Cervezas - Método de Referencia para Determinar el Contenido de Aire y de Dióxido de Carbono en Cerveza Envasada en Botellas y Latas".
 - 6.2.5 Para determinar el ácido fosfórico, se usa la Norma Técnica Nacional 213.012 "Bebidas Alcohólicas - Cervezas. Método de Arbitraje para Determinar el Contenido Total de Fósforo en Cervezas".
 - 6.2.6 Para determinar proteínas, se usa la Norma Técnica Nacional 213.030 "Cervezas - Método para Determinar el Contenido de Nitrógeno Total en Cervezas, Expresado como Proteínas".
 - 6.2.7 Para determinar el extracto aparente, se usa la Norma Técnica Nacional 213.020 "Cervezas - Determinación del Extracto Aparente".

7.- ENVASE Y ROTULADO

- 7.1 Envase.- Deberá cumplir con los siguientes requisitos:
 - 7.1.1 Las materias primas utilizadas en la elaboración de cervezas deberán conservarse en recipientes seguros contra la contaminación ambiental, ataques de parásitos y acción de sustancias nocivas a la salud.

7.1.2 Los envases para el expendio de la cerveza deberán estar perfectamente lavados e higienizados antes de ser utilizados.

7.1.2.1 Los envases de madera deberán ser impermeabilizados interiormente con resinas puras.

7.1.3 No se permitirá el uso de envases cuyo material sea nocivo para la salud.

7.1.4 La capacidad de los envases utilizados deberán estar conforme con lo estipulado en la Norma ITINTEC "Bebidas Alcohólicas - Capacidad de Envases",

7.2 Rotulado.- Los requisitos del rotulado deberán ser los establecidos en la Norma ITINTEC 209.038 Norma General para el Rotulado de los Alimentos Envasados", a excepción de lo dispuesto en párrafo 3.4 de la Norma mencionada.



**BEBIDAS FERMENTADAS. CERVEZA.
ESPECIFICACIONES**

**NTON
03 038 – 06
Primera
Revisión**

NORMA TECNICA OBLIGATORIA NICARAGÜENSE

Derecho de reproducción reservado

Continúa

Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad, Ministerio de Fomento, Industria y Comercio
Telefax: 2774671, Norma Técnica Nicaragüense (NTN)

La Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense 03 038 – 06 Primera Revisión Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense Bebidas Fermentadas. Cerveza. Especificaciones y en su elaboración participaron las siguientes personas en representación de sus instituciones:

Rüdiger Adelman	Compañía Cervecería de Nicaragua
Nidia Menicucci	Compañía Cervecería de Nicaragua
William Ramírez	Compañía Cervecería de Nicaragua
Ileana Prado	Compañía Cervecería de Nicaragua
Manuel Novoa	Compañía Cervecería de Nicaragua
Geraldo Melo de Queirós	Cervecería Río
Wilson José Fornacier	Cervecería Río
Fernando Argueta	Cervecería Río
Samantha Aguilar Beteta	Taboada y Asociados (Cervecería Río)
José Ángel Reyes	ENSA
Enrique Brenes	Suplidora Internacional
Manuel Bermúdez	Cámara de Comercio de Nicaragua
Andrés Gómez Palacios	Policía Nacional - DIE
Francisco Pérez	LABAL
Fátima Juárez	CNDR-MINSA
Clara Ivania Soto	Ministerio de Salud (MINSA)
Javier Cruz	Ministerio de Fomento, Industria y Comercio (MIFIC)
Noemí Solano	Ministerio de Fomento, Industria y Comercio (MIFIC)

Esta norma fue revisada y aprobada por el Comité Técnico de Bebidas Fermentadas en la sesión de trabajo el día 25 de mayo de 2006.

Continúa

1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer las especificaciones, requisitos y los métodos de ensayo que debe cumplir la cerveza que haya sido o no sometida a pasteurización y/o microfiltración durante el proceso de elaboración.

2. CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma aplica a todas las cervezas que se elaboran y comercializan en el territorio nacional, sean estas de producción nacional o importadas.

3. DEFINICIONES Y TERMINOLOGÍA

3.1 Cerveza. Bebida resultante de un proceso de fermentación alcohólica controlado, por medio de levadura cervecera, de un mosto elaborado con agua potable, malta y/o sus extractos sola o mezclada con azúcar y/o otros productos amiláceos, adicionado de lúpulo y/o sus extractos y concentrados. La adición de otros granos y azúcar es facultativa

3.2 Malta. Cebada que ha sido sometida a un proceso de germinación controlada y posterior tostación, en condiciones adecuadas para ser utilizada en la elaboración de cerveza.

3.3 Mosto de cerveza. Es la solución en agua potable de carbohidratos, proteínas, sales minerales y demás compuestos resultantes de la degradación enzimática de la malta, con o sin adjuntos cerveceros realizada mediante procesos tecnológicos adecuados

3.4 Aditivos alimentarios. Son aquellas sustancias que entran en la formulación de una bebida alcohólica fermentada con el objeto de preservar, estabilizar o mejorar su color, olor y apariencia, siempre que no perjudiquen su valor nutritivo, normalmente no se consumen como bebidas, ni se usan como ingredientes característicos de la bebida, tengan o no valor nutritivo y cuya adición intencional, en cualquiera de las fases de producción, resulta o es de prever que resulte (directa o indirectamente), en que él o sus derivados pasen a ser un componente de tales bebidas o afecten a las características de éstas

3.5 Bebida alcohólica fermentada. Es la bebida alcohólica obtenida por la fermentación de jugos azucarados de frutas o por la fermentación de azúcares obtenidos de almidón de cereales, por cualquier proceso de conversión.

3.6 Buenas prácticas de manufactura. Condiciones de infraestructura y procedimientos establecidos para todos, los procesos de producción y control de alimentos, bebidas y productos afines, con el objeto de garantizar la calidad e inocuidad de dichos productos según normas aceptadas internacionalmente.

3.7 Etiqueta. Cualquier marbete, rótulo, marca, imagen u otra materia descriptiva o gráfica, que se haya escrito, impreso, estarcido, marcado en relieve o en hueco-grabado o adherido al envase o tapón de una bebida alcohólica fermentada, que cumpla con las disposiciones de la presente Norma.

Continúa

- 3.8 Etiquetado. Cualquier material escrito, impreso o gráfico que contiene la etiqueta.
- 3.9 Ingrediente. Cualquier sustancia incluidos los aditivos alimentarios que se emplee en la fabricación, preparación y conservación de las bebidas y esté presente en el producto final, aunque posiblemente en forma modificada.
- 3.10 Lote. Es una cantidad determinada de una bebida producida en condiciones esencialmente iguales que se identifica mediante un código al momento de ser envasado.
- 3.11 Métodos de prueba. Procedimientos analíticos utilizados en el laboratorio para comprobar que un producto satisface las especificaciones que establece la norma.
- 3.12 Grado alcohólico. Porcentaje en volumen de alcohol etílico contenido en una bebida alcohólica, referido a 20 °C.
- 3.13 Cerveza saborizada. Es la cerveza a la que se le ha adicionado aromas/jugos/extracto de origen vegetal aprobados por la autoridad competente definida en esta norma.
- 3.14 Adjuntos. Toda fuente donadora de almidón o azúcares fermentables.
- 3.15 Lúpulos. Flor o extractos naturales o procesados de la flor *Humulus Lupulus*.
- 3.16 Extracto original de cerveza. Es la concentración de la cerveza expresada en % en masa y calculada a partir de la concentración de alcohol y del extracto real o verdadero de la misma.

4. CLASIFICACION DE LA CERVEZA

Las cervezas se denominan de acuerdo a las siguientes características:

4.1 Según la "Especie de levadura"

- 4.1.1 Cervezas de baja fermentación, es elaborada usando levaduras cultivadas de la especie *saccharomyces uvarum*, las cuales tienden a sedimentar al concluir el proceso de fermentación.
- 4.1.2 Cerveza de alta fermentación, es elaborada usando levaduras cultivadas de la especie *saccharomyce cerevisiae*, las cuales tienden a flotar sobre la superficie del producto al concluir el proceso de fermentación.

4.2 Según el "Grado Alcohólico"

- 4.2.1 Cervezas sin alcohol, es la que tiene un contenido alcohólico inferior o igual a 0,5% en volumen
- 4.2.2 Cervezas con alcohol, es la que tiene un contenido alcohólico superior a 0.5% en volumen

Continúa

4.3 Según el "Contenido Calórico"

4.3.1 Podrá denominarse cerveza light o ligera la cerveza suave que contenga un valor energético máximo de 150 kJ/ 100 ml.

4.4 Según la "proporción de materias primas"

4.4.1. Cerveza de [...] (seguido del nombre del o de los cereales mayoritarios) Cerveza elaborada a partir de un mosto cuyo extracto original proviene mayoritariamente de adjuntos cerveceros. Podrá tener hasta un máximo de 80% en peso de la totalidad de las materias primas adicionadas. Cuando dos o más cereales contribuyan en igual cantidad se deben declarar todos en la etiqueta.

4.4.2 Cerveza, es aquella que es elaborada a partir de un mosto cuyo extracto original proviene de malta de cebada. Deberá tener hasta un mínima de 50% en peso de la totalidad de las materias primas adicionadas provenientes de malta.

5. MATERIAS PRIMAS Y MATERIALES

5.1 Agua potable. Agua tratada exenta de contaminantes y apta para consumo humano

5.2 Cereales: Los cereales utilizados para la fabricación de cerveza deben estar libres de sustancias que puedan dañar la salud de los consumidores.

5.3 Lúpulo: El lúpulo utilizado en la fabricación de cervezas no debe contener sustancias extrañas o perjudiciales para la salud de los consumidores.

5.4 Azúcar. La industria nacional que utilice azúcar en la elaboración de la cerveza, debe cumplir con la legislación nacional vigente. El azúcar utilizada en la elaboración de cervezas importadas, únicamente debe ser declarada como ingrediente en la etiqueta.

5.5 Levadura. La levadura para la fabricación de cerveza deberá de provenir de un cultivo puro.

5.6 Aditivos. Los aditivos utilizados en la elaboración de cerveza están sujetos a las clasificaciones establecidas en el Codex Alimentarius.

6. ESPECIFICACIONES Y CARACTERISTICAS

6.1 Características generales.

6.1.1 No se permite el uso de materiales filtrantes como asbesto u otros materiales prohibidos en la industria de alimentos y bebidas.

6.1.2 La cerveza deberá estar libre de cualquier ingrediente dañino a la salud.

6.1.3 La cerveza puede contener solamente los aditivos, colorantes y preservantes establecidos por el Codex Alimentarius.

Continúa

6.1.4 Las industrias que elaboren y distribuyan cervezas deberán cumplir con la NTON 03 069 – 06/RTCA 67.01.33:06, Industria de Alimentos y Bebidas Procesados. Buenas Prácticas de Manufactura. Principios Generales.

6.1.5 La cerveza deberá estar libre de insectos o restos de ellos y de cualquier otro tipo de fragmento tales como plástico, metales u otras impurezas externas.

6.1.6 El alcohol etílico de la cerveza deberá provenir de la fermentación del mosto con la levadura de cerveza. No se permite la adición de alcohol a la misma.

6.2 Características sensoriales. La cerveza deberá cumplir con las características propias del producto.

6.3 Características fisico-químicas: La cerveza deberá cumplir con los requisitos fisico-químicos establecidos en la Tabla 1.

6.4 Metales pesados. La cerveza deberá cumplir con los requisitos fisico-químicos establecidos en la Tabla No. 2

6.5 Características microbiológicas: La cerveza deberá cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la Tabla 3.

Tabla 1. Requisitos fisico-químicos de la cerveza

Requisitos	Unidades	Especificaciones
Grado Alcohólico	% Vol	0 – 12.0
Extracto original	% m/m	Min. 4.0
Unidades de Amargo	EBU*	2.0 – 100
PH		3,0 – 4,8
CO ₂	(% v/v)	2,0 – 4,0

* EBU equivale a B.U. (European Bitter Unites)

Tabla 2. Límites de metales pesados en la cerveza

Metales pesados	Unidades	Límites máximos
Plomo, expresado como Pb	(mg/ l)	0.1
Hierro, expresado como Fe	(mg/ l)	0.2
Cobre, expresado como Cu	(mg/ l)	1.0
Cinc, expresado como Zn	(mg/ l)	1.0
Arsénico, expresado como As	(mg/ l)	0.1

6.6 La autoridad competente podrá realizar los análisis de metales pesados establecidos en la tabla 2, cuando lo estime conveniente.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos de la cerveza

Microorganismo	Límites máximos
Recuento total de microorganismos mesófilos, UFC/ml	100
Recuento total de mohos, UFC/ml	20
Coliformes y microorganismos patógenos	Ausente

7. MUESTREO Y CRITERIOS DE ACEPTACION O RECHAZO.

7.1 Muestreo: Para el cumplimiento de los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos, todas las plantas que elaboren y/o comercialicen cervezas deben de tener un programa de monitoreo y muestreo. Este programa debe ser capaz de monitorear el producto en las diferentes etapas del proceso de manufactura y comercialización para asegurar el cumplimiento de los parámetros en la cerveza. Las muestras deben ser representativas y tomadas aleatoriamente cerca del punto en uso.

7.2 Criterio de aceptación o rechazo: Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en la presente norma, se rechazará el lote de la muestra ensayada. En caso de discrepancia, se volverá a hacer un muestreo repitiéndose el ensayo en un laboratorio debidamente acreditado. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote de la muestra ensayada.

7.3 El muestreo y aceptación por parte de las autoridades sanitarias será llevados a cabo de acuerdo al documento “planes de muestreo para alimentos preenvasados CAC/RA 42-1969 del CODEX ALIMENTARIUS”.

8. METODOS DE ENSAYOS Y ANALISIS

8.1 Ensayos fisico-químicos y metales pesados. Estos análisis se efectuaran mediante lo indicado en los métodos ASBC, EBC, AOAC o MEBAK.

8.2 Ensayos Microbiológicos. Estos análisis se efectuaran mediante lo indicado en los métodos microbiológicos, ASBC, EBC o MEBAK.

9. ETIQUETADO

El etiquetado de la cerveza se hará de acuerdo a lo dispuesto en la Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Alcohólicas. Etiquetado de Bebidas Fermentadas.

10. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

10.1 Almacenamiento y transporte. El almacenamiento y transporte de la cerveza debe realizarse de acuerdo a lo establecido en la NTON 03 069 – 06/RTCA 67.01.33:06, Industria de Alimentos y Bebidas Procesados. Buenas Prácticas de Manufactura. Principios Generales.

11. REFERENCIAS

- a) Ley General de Salud
- b) Código de Prácticas de Higiene para la elaboración expendio de alimentos en la vía pública
- c) la NTON 03 069 – 06/RTCA 67.01.33:06, Industria de Alimentos y Bebidas Procesados. Buenas Prácticas de Manufactura. Principios Generales.
- d) NTON 03 021 -99 Norma de etiquetado de alimentos preenvasados para consumo humano
- e) Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense, NTON 01 001-96, Metodología para la presentación de Normas Técnicas Nicaragüenses
- f) Norma Guatemalteca Obligatoria COGUANOR NGO, 33 006; Bebidas Alcohólicas, Fermentadas. Cerveza. Especificaciones.
- g) Resolución MERCOSUR/GMC/RES. N 14/01; Reglamento Técnico MERCOSUR de Productos de Cervecería
- h) American Society of Brewing Chemists (ASBC)
- i) European Brewery Convention (EBC)
- j) Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission eV (MEBAK) (Comisión de análisis técnicos cerveceros de Europa Central)
- k) Association of Official Analytical Chemists AOAC 15th Edition, 1990

12. OBSERVANCIA DE LA NORMA

La verificación de esta Norma estará a cargo del Ministerio Salud a través de la Dirección Control de Alimento y el Ministerio de Fomento, Industria y Comercio a través de la Dirección de Defensa del Consumidor.

13. ENTRADA EN VIGENCIA

La presente Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense entrará en vigencia a partir de su publicación en la Gaceta Diario Oficial.

14. SANCIONES

El incumplimiento a las disposiciones establecidas en la presente norma, debe ser sancionado conforme la legislación vigente.

ULTIMA LINEA

Anexo 3: Evaluación sensorial y fisicoquímica del tratamiento elegido.

INFORME DE ENSAYOS FISICOQUÍMICOS

Solicita: MILAGROS LOCONI SERQUÉN Y WINSTON SILVA GUEVARA

Fecha : 18 – OCTUBRE – 2 012

- I. DATOS DEL SOLICITANTE:
 Nombre : MILAGROS LOCONI SERQUÉN Y WINSTON SILVA GUEVARA
- II. DATOS DE LA MUESTRA
 Nombre : BEBIDA ALCOHOLICA DE ALGARROBA
 Cantidad recibida : 01 muestras.
 Forma de Presentación : Botella sellada no membretada.
 Estado del envase : Bueno.
 Naturaleza del envase : Vidrio transparente.
 Marca : NO INDICA.
 Procedencia : NO INDICA.
 Peso bruto declarado : No indica.
 Fecha de Producción : NO INDICA
 Fecha de Vencimiento : NO INDICA
 Registro Sanitario : NO INDICA.
 Llegada al laboratorio : 18 – 10 - 2 012
 Fecha de análisis : 18 – 10 - 2 012
- III.- TIPO DE ANALISIS
 - ORGANOLEPTICO
 - FISICO - QUIMICO
- IV.- DOCUMENTO NORMATIVO
 Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (D.S. 007-98-SA).

MUESTRA	BEBIDA ALCOHÓLICA DE ALGARROBA	OBNSERVACIONES	METODO EMPLEADO
CARACTERISTICAS			
SABOR	DULCE ACIDO		SENSORIAL
COLOR	OSCURO		SENSORIAL
OLOR	CARACTERISTICO		SENSORIAL
ASPECTO	HOMOGENEO	SIN SEDIMENTO	SENSORIAL
CONSISTENCIA	FLUIDA		SENSORIAL
B°x	12,2		REFRACTOMETRIA
I.R.	1,3447		REFRACTOMETRIA
DENSIDAD	1,03176		DENSITOMETRIA
HUMEDAD %	79,80		GRAVIMÉTRICO DE LA ESTUFA
EXTRACTO SECO%	20,20		POR DIFERENCIA
ACIDEZ %	0,39	G: 6.1(Ex.Ac citrico)	ACIDIMÉTRICO DE MANN
PROTEINAS %	3,99		MICROKJELDHAL
GRASAS %	0,30		SOXLET
CARBOHIDRATOS%	14,96		POR DIFERENCIA
CENIZAS%	0,95		ICINERACIÓN DIRECTA
V.C.	78,50 Kcal/100 ml		FÓRMULA DE ATWATER
V.N.	03,92		FORMULA DE ATWATER

Lambayeque, 24 de Octubre del 2 012


 Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo
 FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA
MSc. José Reufo Pariche
 C.B.P. 2463
 J E F E

Anexo 4: Análisis Microbiológico del tratamiento elegido.

UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO"
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS – LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE AGUA Y ALIMENTOS

ANÁLISIS N° 040-2012 - LM/FCCBB

SOLICITANTE : ING. MILAGROS LOCONI
ASUNTO : ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRA DE LICOR DE ALGARROBO
DENOMINACIÓN DE MUESTRA 40 BEBIDA ALCOHÓLICA DE ALGARROBA
ZONA DE MUESTREO : AREA DE PRODUCCION DE BEBIDA ALCOHÓLICA DE ALGARROBA
FECHA DE TOMA DE MUESTRA : 27 de Octubre del 2012 - Hora de Muestreo: 09:00 am
FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRA : 27 de Octubre del 2012
PROYECTO/BENEFICIARIOS/USO BEBIDA ALCOHÓLICA DE ALGARROBA PARA CONSUMO
DETERMINACIÓN DEL PH : 4,2 (ACIDO) METODO DE LA CINTA PH METER
Responsable del Análisis : Lic. Biólogo Microbiólogo JULIO CESAR SILVA ESTELA (CBP 2731)

RESULTADOS DE LOS ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA DE ALGARROBA

DETERMINACIÓN	MÉTODO	RESULTADOS
Bacterias Coliformes Termotolerantes	Diluciones Sucesivas –NMP/100 mL. Indicadores de contaminación feco-oral	AUSENTES
Bacterias Coliformes Totales	Diluciones Sucesivas –NMP/100 mL.	AUSENTES
Bacterias Patógenas Salmonella, Shigella (Fam. Enterobacteriaceae)	Diluciones Sucesivas –NMP/100 mL.	AUSENTES
Enterococos contaminantes En bebidas con grado alcohólico	Diluciones Sucesivas –NMP/100 mL.	AUSENTES
Escherichia Coli En bebida con grado alcohólico	Diluciones Sucesivas – NMP/100 mL	AUSENTES
Mohos contaminantes y/o Patógenos	Cultivo Directo en placa Determinación de Crecimiento micelial	AUSENTES
Bacterias Mesófilas Viables (BMV) En bebida con grado alcohólico	Diluciones sucesivas NMP/100 mL.	0,4 X 100 (40 UFC/m) ACCEPTABLE (Sobreviven en sustratos alcohólicos)
Levaduras Contaminantes y/o Patógenas	Cultivo Directo en Placa Determinación de Crecimiento Colonial	AUSENTES
Observación Microscópica de Bacterias Contaminantes Y Protistas contaminantes	Microscopia	AUSENTES
Observación Microscópica de Huevos, Larvas, Quistes y/o adultos de gusanos parásitos (Helminthos)	Microscopia	AUSENTES

CONCLUSIONES: Según los resultados obtenidos del análisis microbiológico de Bebida alcohólica de algarroba PRESENTA BUENA CALIDAD MICROBIOLÓGICA.

Los Microorganismos presentes son conformantes de la Microbiota habitual de Sustratos alcohólicos, no representa riesgo microbiológico alguno

No se observan microorganismos Bacterias, Levaduras y Mohos, contaminantes, ni Patógenos (Causantes de enfermedades). Se descarta presencia de especies de Mohos del género Cladosporium.

SE SUGIERE REALIZAR ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO Y ORGANOLÉPTICO A LA MUESTRA DE BEBIDA ALCOHÓLICA DE ALGARROBA

Lambayeque 11 de Noviembre del 2012


LIC. JULIO CÉSAR SILVA ESTELA
 BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO - PARASITÓLOGO
 ANALISTA

Anexo 5: Norma Técnica Peruana de Harina de algarroba.

NORMA TÉCNICA
PERUANA

NTP 209.602
2007

Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales- INDECOPI
Calle de La Prosa 138, San Borja (Lima 41) Apartado 145

Lima, Perú

HARINA DE ALGARROBA. Definiciones y requisitos

ALGARROBA (*Prosopis* sp.) POD FLOUR. Definitions and specifications

2007-07-11
1ª Edición

R.0068-2007/INDECOPI-CRT. Publicada el 2007-07-26

Precio basado en 10 páginas

I.C.S.: 67.020, 01.040.67

ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

Descriptores: Algarroba, harina, mesquite, especificaciones

ÍNDICE

	página
ÍNDICE	i
PREFACIO	ii
1. OBJETO	1
2. REFERENCIAS NORMATIVAS	1
3. CAMPO DE APLICACIÓN	3
4. DEFINICIONES	3
5. REQUISITOS DE CALIDAD	4
6. CONTAMINANTES	6
7. HIGIENE	6
8. ENVASADO	7
9. ETIQUETADO	7
10. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE	7
11. ANTECEDENTES	8
ANEXO	9

PREFACIO

A RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización de Algarroba y sus Derivados, mediante el sistema 2 u Ordinario, durante los meses de junio del 2006 hasta marzo del 2007; utilizando como antecedentes a los que se mencionan en el capítulo correspondiente.

A.2 El Comité Técnico de Normalización del Algarroba y sus Derivados presentó a la Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales -CRT-, con fecha 2007-04-27, el PNTP 209.602:2007, para su revisión y aprobación, siendo sometido a la etapa de Discusión Pública el 2007-05-12. No habiéndose presentado observaciones fue oficializado como Norma Técnica Peruana NTP 209.602:2007 **HARINA DE ALGARROBA. Definiciones y Requisitos**, 1ª Edición, el 26 de julio del 2007.

A.3 La presente Norma Técnica Peruana ha sido estructurada de acuerdo a las Guías Peruanas GP 001:1995 y GP 002:1995.

B. INSTITUCIONES QUE PARTICIPARON EN LA ELABORACIÓN DE LA NORMA TÉCNICA PERUANA

Secretaría	CITE Agroindustrial Piura
Presidente	Roger Lazo Zapata- Productos Naturales Tallán
Secretario	Gastón Cruz Alcedo
Consultora	Patricia Infante Villanueva
ENTIDAD	REPRESENTANTE
Agro Transformadora Norte E.I.R.L.	Falconery Guzmán Palacios
Asociación de Pequeños Productores de Algarrobina y Derivados	Elmer Elías Yarlequé

BAUVI EIRL	Baltazar Augusto Vilchez
Ecobosque S.R.L.	Estela Arroyo Inga
Molino Arévalo	Manuel Arévalo Acha
Santa María de Locuto S.R.L.	José Córdova Huertas Albino Vicente Saucedo
Productos Naturales Tallán	Roger Lazo Zapata Adelaida Lorena Lazo Silva
PRONOR	José Ramos Navarro
Productos San Luis	Juan Luis Lachira Rugel
PROTEÍNAS DE EXPORTACIÓN S.A.C.	Humberto Martínez Calle
La Españolita E.I.R.L.	Alberto Casas García
Ministerio de Agricultura - DPA-DRA	Carlos Custodio López
Ministerio de Salud - Dirección Piura (DESA)	Dorian Yasser Aguirre Campos
Asociación Nueva Labor	José Fabián Zapata Vicente
CETPRO Cayetano Heredia-Catacaos	Raúl Bedregal Manrique
CITE Agroindustrial Piura	Luis Casaverde Pacherez Ana María Rivera Condori Arturo Arbulú Zuazo
Colegio de Biólogos del Perú	Dorothy Torres de León
INASSA	Oscar Miguel Chávez Farfán
INDECOPI	Patricia Infante Villanueva
Profesional Independiente	Cristina Portocarrero Lau
Profesional Independiente	Teresa Montoya Peña
SENASA	Freddy Saavedra Silva Lilian Timaná Mayanga

Universidad de Piura

Fabiola Ubillús Albán
Nora Grados Quesada

Universidad Nacional del Nordeste. Chaco.
Argentina

Dante Prokopiuk

---oooOooo---

HARINA DE ALGARROBA. Definiciones y requisitos

1. OBJETO

Esta Norma Técnica Peruana establece las definiciones, terminología y requisitos, que debe cumplir el producto derivado del proceso de secado, molienda y tamizado de la algarroba, fruto del algarrobo peruano (*Prosopis pallida*), destinado al consumo humano directo o para uso industrial.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Las siguientes normas contienen disposiciones que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta Norma Técnica Peruana. Las ediciones indicadas estaban en vigencia en el momento de esta publicación. Como toda Norma está sujeta a revisión, se recomienda a aquellos que realicen acuerdos basándose en ellas, que analicen la conveniencia de usar las ediciones recientes de las normas citadas seguidamente. El Organismo Peruano de Normalización posee, en todo momento, la información de las Normas Técnicas Peruanas en vigencia.

2.1 Normas Técnicas Peruanas

2.1.1 NTP 209.601:2003 ALGARROBA. Definiciones y requisitos

2.1.2 NTP 209.038:2003 Alimentos Envasados. Etiquetado

2.2 Normas Técnicas Internacionales

2.2.1 CAC/RCP1-1969 Rev.4(2003) Código Internacional de Prácticas Recomendado para Principios Generales de Higiene de los Alimentos

2.3 Normas Técnicas Nacionales

2.3.1 NTC 2160:2006 Harina de Avena para Consumo Humano Capítulo 6.9

2.4 Normas Técnicas de Asociación

2.4.1 AOAC 966.23 C Microbiological Method. C. Aerobic Plate Count. 17th Edition, (2000), Tomo I, Capítulo 17, Página 5

2.4.2 AOAC 987.09 *Staphylococcus aureus* in Foods. 17th Edition, (2000), Tomo I, Capítulo 17, Página 52

2.4.3 AOAC 925.10 Solids (Total) and Moisture in Flour. 17th Edition, (2000), Tomo II, Capítulo 32, Página 1

2.4.4 AOAC 979.09 Protein in Grains. 17th Edition, (2000), Tomo II, Capítulo 32, Página 30

2.4.5 AOAC 923.03 Ash of Flour. 17th Edition, (2000), Tomo II, Capítulo 32, Página 2

2.4.6 AOAC 968.22 Aflatoxins in Peanuts and Peanut Products. 17th Edition, (2000), Tomo II, Capítulo 49, Página 9

2.4.7 FDA/CFSAN Bacteriological Analytical Manual. On Line. (2001). Revisión de la 8^a Edición. Capítulo 18. Yeasts, molds and mycotoxins

2.4.8 FDA/CFSAN Bacteriological Analytical Manual. On Line. (2001). Revisión de la 8^a Edición. Capítulo 4. Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria

- 2.4.9 FDA/CFSAN Bacteriological Analytical Manual. On Line. (2001).
Revisión de la 8ª Edición. Capítulo 5. *Salmonella*

3. CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Técnica Peruana se aplica al producto resultante del proceso de secado y molienda de la algarroba madura (puede incluir también operaciones posteriores de mezclado), que se utiliza para alimentación humana.

4. DEFINICIONES

Para los propósitos de esta Norma Técnica Peruana se aplican las siguientes definiciones, complementarias a las establecidas en la NTP 209.601:

- 4.1 **molienda:** Proceso mediante el cual se reduce el tamaño de partícula; éste dependerá del tipo y características del molino.
- 4.2 **tamizado:** Proceso mediante el cual se separan las partículas de distinto tamaño, por medio de mallas o placas perforadas de distintas dimensiones.
- 4.3 **secado:** Proceso por el cual la algarroba pierde humedad; la fuente de calor por lo general es aire caliente.
- 4.4 **carozo:** Endocarpio de la vaina de algarroba, duro y fibroso, en cuyo interior se encuentran alojadas las semillas.
- 4.5 **harina de algarroba:** Producto obtenido por molienda de vainas de algarroba (*Prosopis pallida*), sanas, previamente lavadas, de las que se han eliminado el carozo y gran parte de las semillas, y secadas hasta una humedad apropiada que permita la molienda fina, hasta obtener una harina de granulometría establecida.

5. REQUISITOS DE CALIDAD

5.1 Requisitos organolépticos

El producto objeto de esta Norma Técnica Peruana debe cumplir con los requisitos organolépticos que se señalan en la Tabla 1:

TABLA 1 - Requisitos organolépticos

Componentes	Características
Aspecto	Polvo homogéneo, libre de grumos, exento de toda sustancia o material extraño a su naturaleza.
Aroma	Intenso, característico de algarroba
Sabor	Característico de algarroba, dulce, ligeramente amargo y astringente.
Color	Cercano al beige o beige oscuro, dependiendo del grado de secado.

5.2 Requisitos fisicoquímicos

El producto objeto de esta Norma Técnica Peruana debe cumplir con los requisitos fisicoquímicos que se señalan en la Tabla 2:

TABLA 2 - Requisitos fisicoquímicos

Componentes	Valores	Método Analítico
Humedad, %	Máximo 5	AOAC Official Method 925.10. Solids (Total) and Moisture in Flour
Tamaño de partícula retenido, %	Como máximo 0,5% del peso de la harina quedará retenido en la malla de 180 micras y como máximo el 50% del peso de la harina quedará retenido en la malla de 150 micras	NTC 2160. Harina de Avena para Consumo Humano. Capítulo 6.9
Proteína cruda, %	7 - 15	AOAC Official Method 979.09. Protein in Grains
Cenizas, %	Máximo 5	AOAC Official Method 923.03. Ash of Flour
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2 (ppb)	Máximo 10	AOAC Official Method 968.22. Aflatoxins in Peanuts and Peanut Products

5.3 Requisitos microbiológicos

El producto objeto de esta Norma Técnica Peruana debe cumplir con los requisitos microbiológicos que se señalan en la Tabla 3:

TABLA 3 - Requisitos microbiológicos

Componentes	Límite permisible	Método Analítico
Aerobios mesófilos (UFC/g)	10 ²	AOAC Official Method 966.23 C
Mohos y levaduras (UFC/g)	10 ²	FDA/FCSAN BAM. Capítulo 18
<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	10 ²	FDA/FCSAN BAM. Capítulo 4
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	10 ²	AOAC Official Method 987.09
<i>Salmonella</i> en 25g	Ausencia	FDA/FCSAN BAM. Capítulo 5

6. CONTAMINANTES

6.1 Metales pesados

La harina de algarroba no debe contener metales pesados en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud humana.

6.2 Residuos de plaguicidas

La harina de algarroba debe ajustarse a los límites máximos para residuos de plaguicidas, establecidos por el CODEX ALIMENTARIUS.

7. HIGIENE

Se recomienda que el producto al que se refieren las disposiciones de esta norma, se prepare y manipule de conformidad con el Código Internacional de Prácticas Recomendado para Principios Generales de Higiene de los Alimentos (CAC/RCP 1.

8. ENVASADO

La harina de algarroba debe envasarse y manipularse en recipientes que mantengan las cualidades nutritivas, higiénicas y tecnológicas del producto.

Los envases deben estar fabricados únicamente con materiales que sean inocuos y adecuados para el uso en alimentos. No deben transmitir al producto ninguna sustancia tóxica, ni olores o sabores extraños.

9. ETIQUETADO

Además de cumplir con las disposiciones de la NTP 209.038, se aplicarán las siguientes disposiciones específicas:

9.1 Independientemente del nombre comercial que se use, deberá indicarse siempre el nombre genérico: **“harina de algarroba”** en la parte principal de la etiqueta.

9.2 En el caso de los productos alimenticios que contengan como ingrediente el producto objeto de esta norma, deberá referirse como **“harina de algarroba”** y no con otras denominaciones que podrían confundir al consumidor.

10. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El producto se almacenará bajo condiciones apropiadas para evitar su deterioro, descomposición, y contaminación con productos tóxicos.

11. ANTECEDENTES

- | | | |
|------|---------------------|--|
| 11.1 | CODEX STAN 152-1985 | Norma para la harina de trigo (Rev. 1:1995) |
| 11.2 | COVENIN 217:2001 | Harina de trigo |
| 11.3 | NTP 205.031:1975 | Sub productos de la molienda del trigo |
| 11.4 | NTP 205.044:1976 | Harinas sucedáneas procedentes de leguminosas de grado alimenticio |

ANEXO
(INFORMATIVO)
BIBLIOGRAFÍA

A.1 DIAZ RONCAL, CÉSAR A. Propuesta técnico-económica para la producción industrial de harina de algarroba. Tesis de Ingeniería Industrial. Universidad de Piura. Piura. (2001)

A.2 FELKER, P., GRADOS, N., CRUZ, G. and PROKOPIUK, D. Economic assessment of production of flour from *Prosopis alba* and *P. pallida* pods for human food applications. *Journal of Arid Environments*. 53: 517-528 (2003)

A.3 FELKER, PETER. Mesquite flour. New life for an ancient staple. *Gastronomica* 5:85-89 (2005)

A.4 CRUZ, G. Obtención de harina de algarroba y posibilidades de usarla en productos para la alimentación humana. Tesis de Ingeniería Industrial. Universidad de Piura, Piura (1986)

A.5 CRUZ, G. Evaluation of flour from *Prosopis juliflora* and *Prosopis pallida* pods in bakery and extrusion-cooking products. In: M.A. Habit (Ed.). *The current state of the knowledge on Prosopis juliflora*. FAO, Rome, 425-439 (1988)

A.6 BRAVO, L., GRADOS, N., SAURA-CALIXTO, F. Composition and potential uses of mesquite pods (*Prosopis pallida* L): comparison with carob pods (*Ceratonia siliqua* L). *J. Sci. Food Agric.* 65: 303-306 (1994)

A.7 PROKOPIUK, DANTE BASILIO. "Sucedáneo del café a partir de algarroba (*Prosopis alba* Griseb)". Tesis Doctoral, Registro 2183, Universidad Politécnica de Valencia, España. 107 páginas. (2005)

A.8 Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA, 17th Edition, Vol. I and II. (2000)

A.9 MINISTERIO DE SALUD. RM N° 615-2003-SA/DM. Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Artículo 17. Punto 4. Productos deshidratados, liofilizados o concentrados y mezclas. Ítem 4.3 Mezcla en seco de uso instantáneo

Anexo 6: Determinación de azúcares reductores y totales por método volumétrico de Fehling-Causse Bonans

Azúcares reductores

En un erlenmeyer de 250 ml se colocaron 10 ml del reactivo Fehling-Causse-Bonans, se agregaron 50 ml de agua destilada y se calentó hasta ebullición sobre tela de amianto.

Desde una bureta se dejó caer una solución de glucosa al 1% a razón de 3 gotas por segundo, manteniendo esa velocidad y una ebullición constante, para que los resultados sean uniformes.

El líquido tomó una coloración verdosa cuando se aproximó al punto final entonces se agregaron 2 gotas de una solución acuosa de azul de metileno al 1% y una vez que ésta se distribuyó uniformemente, se continuó la adición de la solución patrón de glucosa a razón de una a dos gotas por vez manteniendo siempre la ebullición, hasta desaparición de color azul y aparición de color amarillo claro. Se realizaron los cálculos para determinar el título del reactivo Fehling-Causse-Bonans.

Para la determinación del porcentaje de azúcares reductores de la muestra se procedió de la misma manera que se hizo la titulación del Fehling-Causse-Bonans reemplazando en la bureta la solución patrón de glucosa por la muestra. Se realizaron los cálculos necesarios. (Montes, 1981).

Azúcares totales: cuantificación por el método volumétrico de Fehling-Causse-Bonans previa hidrólisis ácida. (Montes, 1981).

$$\% \text{ Azúcares reductores} = \frac{V_1 \times F \times 100}{W_m \times G}$$

Dónde:

V_1 : Volumen total

F: Factor de fehling (0.041)

W_m : Peso de la muestra

G: Gasto de la solución.

Anexo 7: Determinación de densidad

Se determinó mediante Método de picnométrico según Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins. 1999.

1. Principio.

La densidad relativa es el cociente de la masa volumétrica del vino por la masa volumétrica del agua.

Su símbolo es d_{20} o simplemente d , cuando no haya posibilidad de confusión.

La masa volúmica y la densidad relativa de un vino se determinan a 20°C.

2. Material y aparatos.

- Picnómetro de vidrio de 50 ml de capacidad, de cuello con diámetro interior de 3,5 mm. Embudo y sifón para picnómetros.
- Termómetro contrastado dividido en 1/5-1/10 de grado Celsius graduado de 10 a 30°C.
- Termostato regulado a 20°C \pm 0,27.
- Balanza con aproximación de 0,1 mg

3. Procedimiento.

- Lavar bien el picnómetro y enjuagarlo después con Etanol 96% v/v y luego con Éter Dietílico, escurrir bien y secar cuidadosamente con paño de hilo o papel filtro el exterior, y con corriente de aire seco el interior, tapar, dejar en reposo en la caja de la balanza durante 30 minutos aproximadamente, y pesar.
- Llenar después con agua a 20°C recién destilada, con cuidado de evitar burbujas de aire en el interior del picnómetro. Sumergir en el agua a la temperatura comprobada de 20°C.
- Mantener el picnómetro en el termostato durante 30 minutos, y enrasar el nivel del agua con la marca del cuello. Tapar el picnómetro, secar exteriormente con las precauciones expuestas, dejar nuevamente 30 minutos en la caja de la balanza y después pesar.
- Vaciar el picnómetro, enjuagar nuevamente, primero con agua y después con Etanol 96% v/v y Eter Dietílico, y secar como anteriormente, llenar con el vino a temperatura de 20°C, aproximadamente, cuidando que no quede ninguna burbuja de aire (en caso de que el vino tenga gas carbónico, se eliminará previamente como luego se indica). Dejar el picnómetro con el vino en el

termostato a $20^{\circ}\text{C} \pm 0,27$ durante 30 minutos, llenar hasta volumen con el vino y pesar.

- Cálculo de la densidad relativa a 20°C .

$$d_{20}^{20} = \frac{P'' - P}{P' - P}$$

P = peso en g del picnómetro vacío.

P' = peso en g del picnómetro más agua a 20°C .

P'' = peso en g del picnómetro más vino a 20°C .

Anexo 8: Determinación de grado alcohólico:

Se determinó mediante Método areométrico (Título alcohométrico) según Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins. 1999.

Procedimiento.

Destilación:

- Medir 250 ml de vino en un matraz aforado con cuello de 12 mm de diámetro interior como máximo, y anotar la temperatura. Introducir el líquido en un matraz de destilación que contenga una docena de fragmentos de materia porosa piedra pómez gránulos. Lavar el matraz cuatro veces con 5 ml de agua destilada.
- Añadir 10 ml de la lechada de cal. La materia colorante debe virar a la alcalinidad. Recoger el destilado en el mismo matraz de 250 ml, conteniendo unos 10 ml de agua, en la que debe sumergirse el pico del tubo afilado, prolongación del refrigerante.
- Destilar por lo menos 200 ml. Después agitar y llenar hasta volumen con agua destilada, a la misma temperatura que se midió el líquido inicialmente.

Determinación areométrica:

- Colocar en la probeta descrita 250 ml del destilado e introducir el areómetro y el termómetro.
- El areómetro y especialmente el tallo graduado deberán estar limpios y desengrasados.
- Agitar para uniformar la temperatura. Un minuto después, hacer la lectura del termómetro. Retirar el termómetro y hacer la lectura de la masa aparente sobre el tallo del areómetro, después de un minuto de reposo. Teniendo en cuenta que se utiliza destilado en vez de vino, y que el tallo del areómetro viene graduado en grados alcohólicos aparentes.
- Hacer al menos tres lecturas del grado alcohólico aparente, sirviéndose si es preciso de una lupa.

Cálculo.

Calcular el grado alcohólico internacional a 20°C, utilizando la tabla, añadiendo o restando al grado alcohólico aparente a t° la corrección correspondiente.

TABLA 5 (B. I. (continuación))									
Tempe- raturas	Grados alcohólicos aparentes								
	9	10	11	12	13	14	15	16	17
10°	1,34	1,44	1,56	1,70	1,89	2,05	2,24	2,43	2,63
11°	1,25	1,34	1,45	1,59	1,73	1,88	2,04	2,21	2,38
12°	1,15	1,23	1,32	1,45	1,55	1,69	1,83	1,97	2,13
13°	1,02	1,10	1,18	1,28	1,39	1,49	1,60	1,72	1,85
14°	0,90	0,96	1,03	1,11	1,19	1,28	1,39	1,49	1,60
15°	0,77	0,82	0,87	0,94	1,01	1,09	1,17	1,26	1,34
16°	0,62	0,68	0,71	0,78	0,82	0,88	0,94	1,01	1,09
17°	0,48	0,51	0,55	0,58	0,63	0,67	0,71	0,76	0,81
18°	0,33	0,34	0,36	0,39	0,42	0,45	0,47	0,50	0,53
19°	0,18	0,17	0,18	0,20	0,21	0,23	0,24	0,26	0,28
20°	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21°	0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,23	0,24	0,26	0,28
22°	0,35	0,37	0,40	0,42	0,44	0,46	0,48	0,51	0,54
23°	0,54	0,56	0,60	0,63	0,67	0,71	0,74	0,78	0,82
24°	0,73	0,77	0,81	0,85	0,89	0,94	0,99	1,04	1,09
25°	0,93	0,98	1,02	1,07	1,12	1,18	1,24	1,32	1,38
26°	1,14	1,19	1,24	1,30	1,36	1,43	1,51	1,57	1,66
27°	1,34	1,40	1,46	1,53	1,60	1,68	1,76	1,85	1,93
28°	1,56	1,62	1,69	1,75	1,83	1,92	2,02	2,11	2,21
29°	1,78	1,85	1,92	2,00	2,08	2,17	2,28	2,39	2,50
30°	2,00	2,07	2,15	2,23	2,33	2,45	2,55	2,67	2,79

TABLA 5 (B. I. (continuación))									
Tempe- raturas	Grados alcohólicos aparentes								
	18	19	20	21	22	23	24	25	26
10°	2,84	3,01	3,15	3,29	3,44	3,58	3,70	3,82	3,93
11°	2,66	2,71	2,84	2,95	3,06	3,21	3,32	3,42	3,52
12°	2,27	2,40	2,51	2,63	2,73	2,84	2,98	3,02	3,10
13°	1,99	2,11	2,20	2,29	2,36	2,47	2,57	2,64	2,71
14°	1,71	1,81	1,89	1,96	2,03	2,11	2,19	2,25	2,30
15°	1,44	1,51	1,58	1,64	1,71	1,77	1,82	1,87	1,91
16°	1,15	1,20	1,26	1,31	1,36	1,40	1,45	1,49	1,53
17°	0,85	0,90	0,95	0,99	1,02	1,08	1,04	1,12	1,15
18°	0,58	0,60	0,63	0,65	0,68	0,70	0,72	0,75	0,76
19°	0,29	0,30	0,31	0,32	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37
20°	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21°	0,30	0,31	0,32	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37	0,38
22°	0,57	0,59	0,62	0,65	0,67	0,69	0,71	0,73	0,74
23°	0,85	0,90	0,94	0,98	1,00	1,03	1,06	1,08	1,11
24°	1,14	1,21	1,27	1,31	1,36	1,39	1,42	1,46	1,50
25°	1,44	1,51	1,60	1,65	1,69	1,72	1,76	1,81	1,86
26°	1,73	1,82	1,90	1,97	2,02	2,06	2,12	2,18	2,23
27°	2,02	2,12	2,22	2,30	2,36	2,42	2,47	2,53	2,59
28°	2,31	2,43	2,54	2,63	2,70	2,76	2,83	2,90	2,96
29°	2,62	2,73	2,86	2,96	3,05	3,11	3,16	3,25	3,32
30°	2,91	3,04	3,16	3,25	3,38	3,46	3,46	3,54	3,61

Anexo 9: Cálculo de base seca a partir de los datos obtenidos de base húmeda de las vainas de algarroba.

- Cálculo de la humedad:

$$11.8 \frac{g \text{ de agua}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{11.8}{100 - 11.8} \right) * 100 = 13.38 \frac{g \text{ de agua}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de la Proteínas:

$$8.01 \frac{g \text{ de proteína}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{8.01}{100 - 8.01} \right) * 100 = 8.7 \frac{g \text{ de proteína}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de grasa:

$$0.86 \frac{g \text{ de grasa}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{0.86}{100 - 0.86} \right) * 100 = 0.87 \frac{g \text{ de grasa}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de fibra:

$$20.74 \frac{g \text{ de fibra}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{20.74}{100 - 20.74} \right) * 100 = 26.16 \frac{g \text{ de fibra}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de cenizas:

$$3.22 \frac{g \text{ de cenizas}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{3.22}{100 - 3.22} \right) * 100 = 3.32 \frac{g \text{ de cenizas}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de carbohidratos:

$$\%Carbohidratos = 100 - (13.38 + 8.7 + 0.87 + 3.32)$$

$$\%Carbohidratos = 73.73$$

- Cálculo de azúcares reductores:

$$4.11 \frac{g \text{ de azúcares reductores}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{4.11}{100 - 4.11} \right) * 100 = 4.28 \frac{g \text{ de azúcares reductores}}{\text{materia seca}}$$

- Cálculo de azúcares totales:

$$36.47 \frac{g \text{ de azúcares totales}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{36.47}{100 - 36.47} \right) * 100 = 42.59 \frac{g \text{ de azúcares totales}}{\text{materia seca}}$$

Anexo 10: Cálculo de base seca a partir de los datos obtenidos de base húmeda de la harina de algarroba.

- Cálculo de la humedad:

$$5.46 \frac{g \text{ de agua}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{5.46}{100 - 5.46} \right) * 100 = 5.78 \frac{g \text{ de agua}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de la Proteínas:

$$12.78 \frac{g \text{ de proteína}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{12.78}{100 - 12.78} \right) * 100 = 14.65 \frac{g \text{ de proteína}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de grasa:

$$2.14 \frac{g \text{ de grasa}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{2.14}{100 - 2.14} \right) * 100 = 2.19 \frac{g \text{ de grasa}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de fibra:

$$24.47 \frac{g \text{ de fibra}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{24.47}{100 - 24.47} \right) * 100 = 32.39 \frac{g \text{ de fibra}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de cenizas:

$$3.01 \frac{g \text{ de cenizas}}{100 g \text{ de materia húmeda}} = \left(\frac{3.01}{100 - 3.01} \right) * 100 = 3.1 \frac{g \text{ de cenizas}}{materia \text{ seca}}$$

- Cálculo de carbohidratos:

$$\%Carbohidratos = 100 - (5.78 + 14.65 + 2.19 + 3.1)$$

$$\%Carbohidratos = 74.28$$

Anexo 11: Características fisicoquímicas de los extractos obtenidos en las diferentes diluciones.

Tabla 32: Características fisicoquímicas de los extractos obtenidos en las diferentes diluciones.

CARACTERÍSTICAS	DILUCIONES								
	1/3			1/4			1/5		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Sólidos solubles (°Brix)	23.6	23.6	23.6	19.5	19.4	19.5	15.7	15.6	15.7
pH	5.42	5.42	5.4	5.48	5.49	5.49	5.4	5.43	5.43
Acidez titulable (% ácido sulfúrico)	0.179	0.178	0.179	0.177	0.178	0.177	0.169	0.169	0.168
Densidad (g/m ³) a 20°C	1.078	1.077	1.078	1.073	1.071	1.072	1.073	1.072	1.071

Fuente: Elaboración propia (2013)

Dónde:

R1: 1°Repetición

R2: 2°Repetición

R3: 3°Repetición

Tabla 33: Concentración de azúcar de las tres repeticiones con respecto al tiempo de fermentación final.

Tiempo (h)	Concentración de azúcar											
	1/3				1/4				1/5			
	R1	R2	R3	Promedio	R1	R2	R3	Promedio	R1	R2	R3	Promedio
0	23.5	23.6	23.6	23.6	19.5	19.4	19.5	19.5	15.7	15.8	15.8	15.8
12	19.5	19.4	19.5	19.5	16.1	16.1	16.2	16.1	12.7	12.5	12.6	12.6
24	14.2	14.3	14.1	14.2	12.5	12.4	12.3	12.4	10.1	10.2	10.2	10.2
36	12	12.1	12	12.0	10.4	10.3	10.3	10.3	9.4	9.5	9.5	9.5
48	10.9	11.1	11.1	11.0	9.1	9	9	9.0	7.3	7.2	7.2	7.2
60	10.8	10.7	10.8	10.8	8.4	8.4	8.4	8.4	7.2	7.2	7.2	7.2
72	10.8	10.9	10.7	10.8	8.5	8.4	8.4	8.4	7.2	7.2	7.2	7.2

Fuente: Elaboración propia (2013)

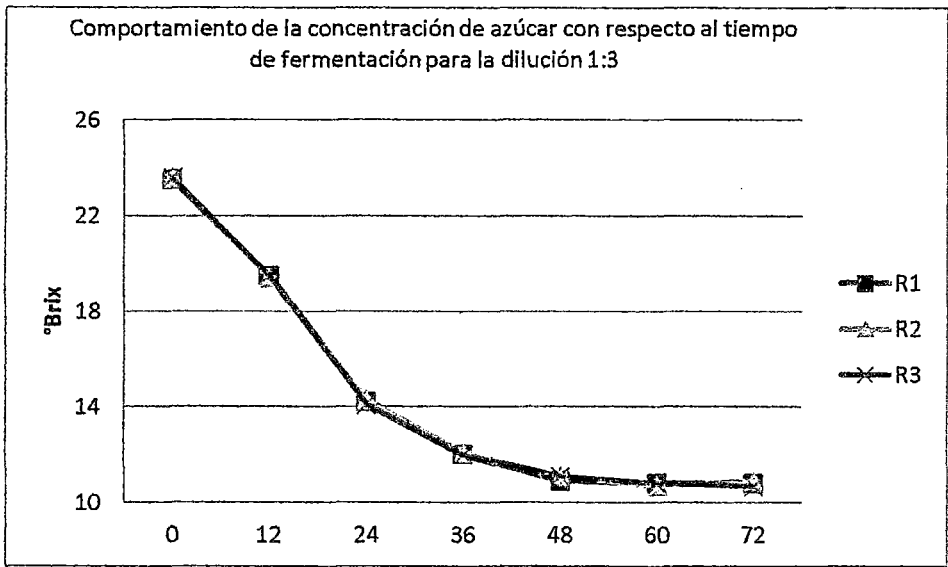
Dónde:

R1: 1°Repetición

R2: 2°Repetición

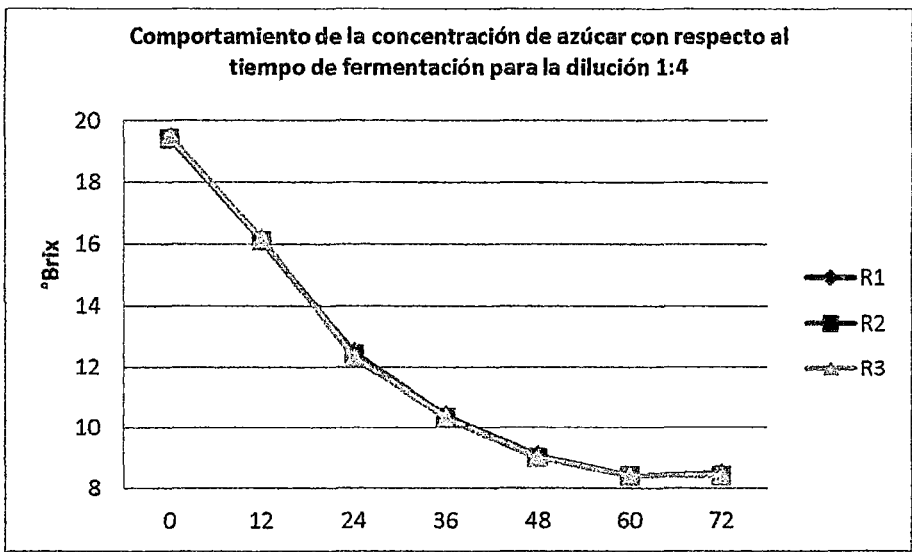
R3: 3°Repetición

Figura 16: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:3



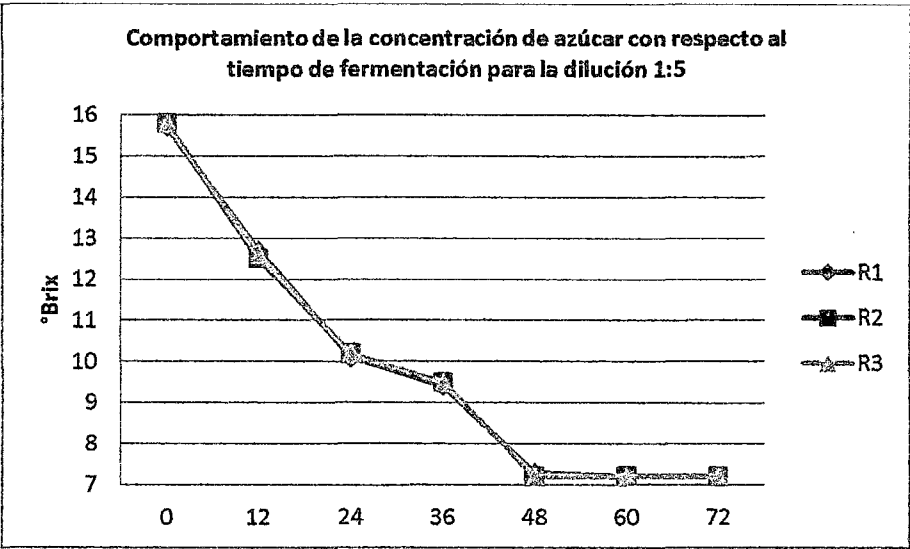
Fuente: Elaboración propia (2013)

Figura 17: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:4



Fuente: Elaboración propia (2013)

Figura 18: Comportamiento de la concentración de azúcar con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:5



Fuente: Elaboración propia (2013).

Tabla 34: Variación del pH en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.

Tiempo (h)	pH											
	1/3				1/4				1/5			
	R1	R2	R3	Promedio	R1	R2	R3	Promedio	R1	R2	R3	Promedio
0	4.46	4.46	4.45	4.46	4.46	4.47	4.47	4.47	4.46	4.45	4.45	4.45
12	4.31	4.31	4.3	4.31	4.28	4.29	4.29	4.29	4.25	4.26	4.25	4.25
24	4.22	4.21	4.22	4.22	4.16	4.16	4.15	4.16	4.13	4.14	4.13	4.13
36	4.27	4.27	4.27	4.27	4.24	4.23	4.23	4.23	4.27	4.27	4.27	4.27
48	4.32	4.32	4.32	4.32	4.25	4.25	4.24	4.25	4.34	4.35	4.35	4.35
60	4.38	4.38	4.37	4.38	4.36	4.36	4.36	4.36	4.39	4.38	4.39	4.39
72	4.37	4.36	4.36	4.36	4.36	4.36	4.36	4.36	4.4	4.39	4.4	4.40

Fuente: Elaboración propia (2013)

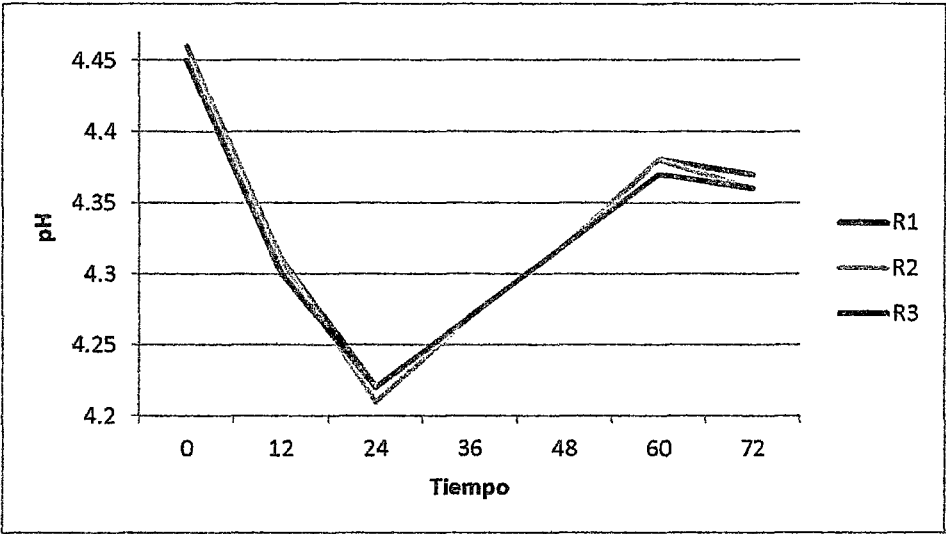
Dónde:

R1: 1º Repetición

R2: 2º Repetición

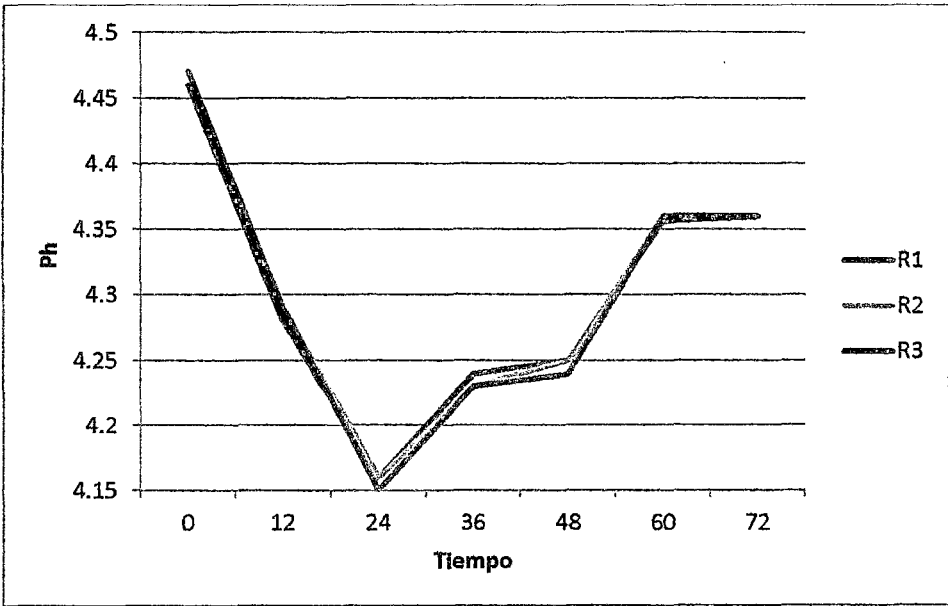
R3: 3º Repetición

Figura 19: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:3



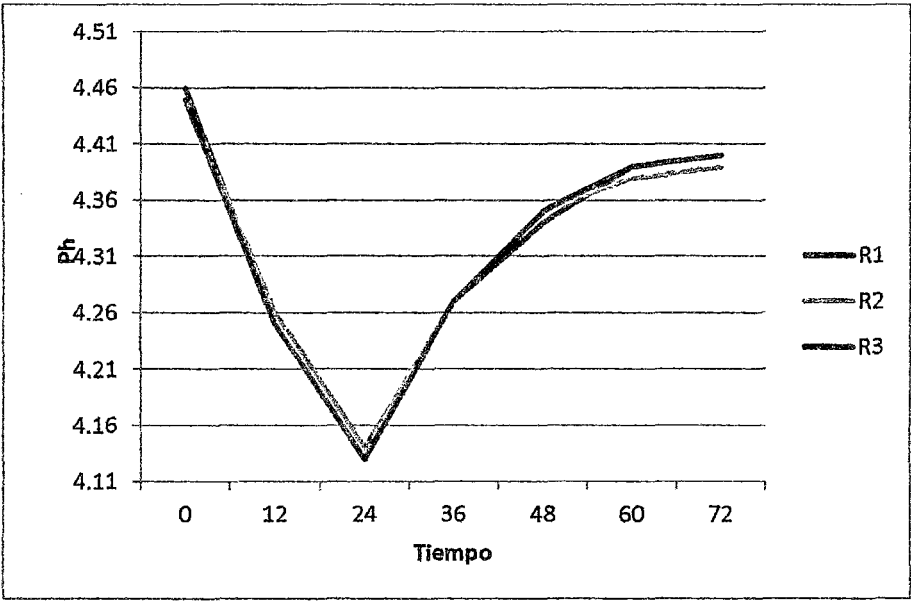
Fuente: Elaboración propia (2013).

Figura 20: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:4



Fuente: Elaboración propia (2013).

Figura 21: Comportamiento del pH con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:5



Fuente: Elaboración propia (2013).

Tabla 35: Variación del grado alcohólico en las tres diluciones con respecto al tiempo de fermentación.

Tiempo (h)	Grado alcohólico (°GL)											
	1/3				1/4				1/5			
	R1	R2	R3	Promedio	R1	R2	R3	Promedio	R1	R2	R3	Promedio
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	2.48	2.60	2.54	2.54	2.11	2.04	2.04	2.09	1.86	2.04	1.98	1.97
24	5.76	5.76	5.89	5.82	4.34	4.34	4.46	4.37	3.47	3.47	3.47	3.45
36	7.12	7.12	7.19	7.18	5.64	5.64	5.70	5.66	3.90	3.90	3.90	3.88
48	7.81	7.74	7.74	7.80	6.44	6.44	6.51	6.46	5.20	5.33	5.33	5.33
60	7.87	7.99	7.93	7.92	6.88	6.81	6.88	6.83	5.27	5.33	5.33	5.33
72	7.87	7.87	7.99	7.92	6.81	6.81	6.88	6.83	5.27	5.33	5.33	5.33

Fuente: Elaboración propia (2013).

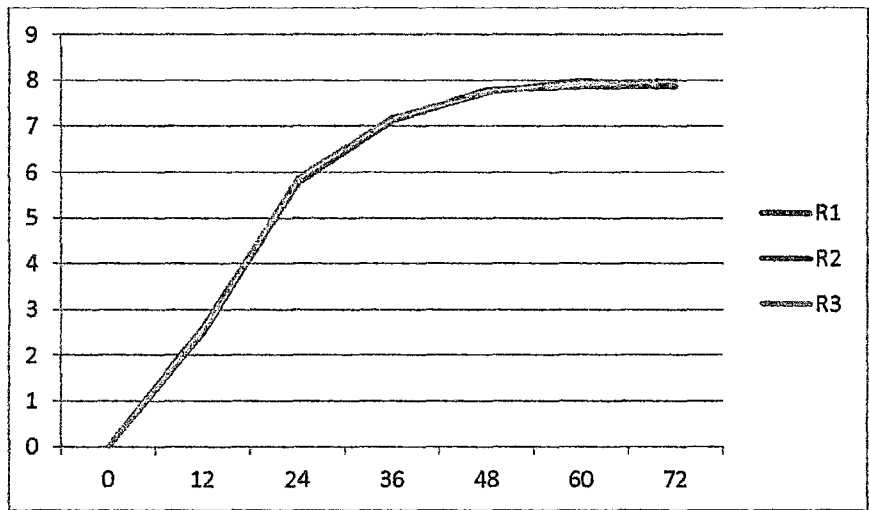
Dónde:

R1: 1°Repetición

R2: 2°Repetición

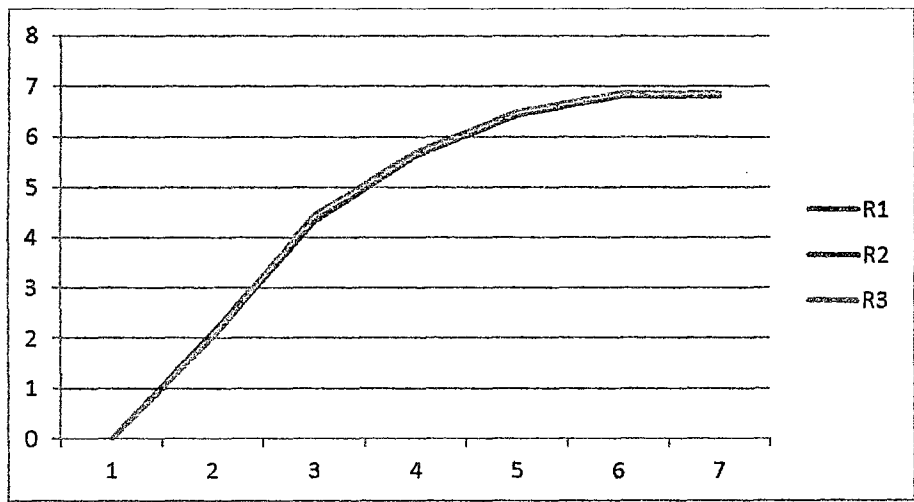
R3: 3°Repetición

Figura 22: Comportamiento del grado alcohólico con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:3



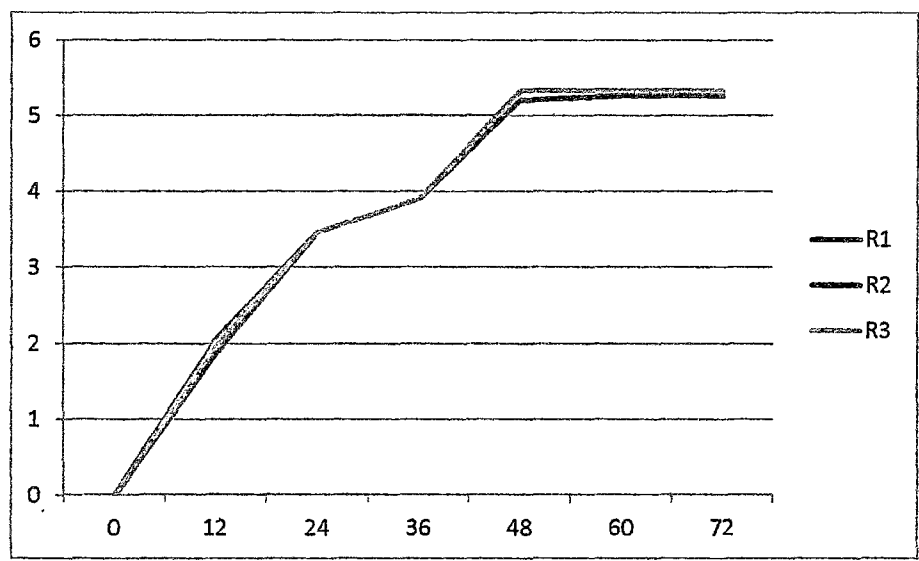
Fuente: Elaboración propia (2013).

Figura 23: Comportamiento del grado alcohólico con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:4



Fuente: Elaboración propia (2013).

Figura 24: Comportamiento del grado alcohólico con respecto al tiempo de fermentación para la dilución 1:5



Fuente: Elaboración propia (2013).

PRIMERA EVALUACIÓN: DILUCIÓN 1:3

Anexo 12: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.

Tabla 36: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.

	219	375	506	
Panelista/Muestra	D _{1t1}	D _{1t2}	D _{1t3}	TOTAL
1	4	3	4	11
2	3	5	3	11
3	2	4	4	10
4	4	3	2	9
5	4	3	3	10
6	5	5	2	12
7	4	4	4	12
8	4	3	3	10
9	4	2	3	9
10	4	3	3	10
11	4	4	4	12
12	5	3	3	11
13	4	3	2	9
14	4	2	3	9
15	3	3	4	10
TOTAL	58	50	47	155
PROMEDIO	3.87	3.33	3.13	

Fuente: propia de los autores (2013)

Tabla 37: Análisis de varianza para el atributo del olor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	4.311	2.156	2.871	3.218
PANELISTAS	14	5.778	0.413	0.550	
ERROR	28	21.022	0.7508		
TOTAL	44	31.111			

Fuente: Propia de los autores (2013)

Con esto se concluye que en relación al olor según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$
 $q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.7508/15}$$

$$\Delta = 0.7837$$

Tabla 38: Ordenamiento de medias para el olor.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	3.87	3.33	3.13
Clave	I	II	III

I – III	0.74< 0.7837	(No Significativo)
I – II	0.54<0.7837	(No Significativo)
II – III	0.20<0.7837	(No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, los tratamientos no difieren entre sí por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

Anexo 13: Resultados de la evaluación sensorial para el color.

Tabla 39: Resultados de la evaluación sensorial para el color.

	214	326	411	
Panelista/Muestra	D _{1t1}	D _{1t2}	D _{1t3}	TOTAL
1	4	4	4	12
2	4	2	5	11
3	2	4	4	10
4	5	4	4	13
5	5	4	4	13
6	5	4	4	13
7	4	5	4	13
8	5	1	3	9
9	4	2	3	9
10	4	2	3	9
11	2	4	3	9
12	3	2	2	7
13	4	3	1	8
14	3	4	3	10
15	4	4	3	11
TOTAL	58	49	50	157
PROMEDIO	3.87	3.27	3.33	

Fuente: Propia de los autores (2013).

Tabla 40: Análisis de varianza para el atributo color.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	3.244	1.622	1.656	3.218
PANELISTAS	14	18.578	1.327	1.355	
ERROR	28	27.422	0.9794		
TOTAL	44	49.244			

Fuente: Propia de los autores (2013).

Con esto se concluye que en relación al olor según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$
 $q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.9794/15}$$

$$\Delta = 0.8951$$

Tabla 41: Ordenamiento de medias para el color.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	3.87	3.27	3.33
Clave	I	II	III

I – III	0.54< 0.8951	(No Significativo)
I – II	0.60< 0.8951	(No Significativo)
III – II	0.06< 0.8951	(No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, los tratamientos no difieren entre sí por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

Anexo 14: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.

Tabla 42: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.

	252	356	185	
Panelista/Muestra	D₁t₁	D₁t₂	D₁t₃	TOTAL
1	1	1	1	3
2	3	2	2	7
3	2	3	2	7
4	2	3	3	8
5	1	2	2	5
6	1	1	1	3
7	3	3	3	9
8	3	3	1	7
9	3	2	2	7
10	1	1	1	3
11	1	1	1	3
12	3	2	1	6
13	2	1	1	4
14	3	1	2	6
15	3	2	2	7
TOTAL	32	28	25	85
PROMEDIO	2.13	1.87	1.67	

Fuente: Propia de los autores (2013).

Tabla 43: Análisis de varianza para el atributo sabor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	1.644	0.822	2.376	3.218
PANELISTAS	14	19.111	1.365	3.945	
ERROR	28	9.689	0.3460		
TOTAL	44	30.444			

Fuente: Propia de los autores (2013).

Con esto se concluye que en relación al olor según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$
 $q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.3460/15}$$

$$\Delta = 0.5320$$

Tabla 44: Ordenamiento de medias para el sabor.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	2.13	1.87	1.67
Clave	I	II	III

I – III	0.46< 0.5320	(No Significativo)
I – II	0.26< 0.5320	(No Significativo)
II – III	0.20< 0.5320	(No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, los tratamientos no difieren entre sí por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

SEGUNDA EVALUACION: 1:4

Anexo 15: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.

Tabla 45: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.

	854	692	538	
Panelista/Muestra	D ₂ t ₁	D ₂ t ₂	D ₂ t ₃	TOTAL
1	4	3	4	11
2	5	2	2	9
3	4	3	3	10
4	2	3	4	9
5	4	5	3	12
6	5	4	4	13
7	5	5	4	14
8	3	4	3	10
9	3	3	3	9
10	4	2	3	9
11	3	3	3	9
12	4	2	2	8
13	3	3	3	9
14	5	3	2	10
15	4	3	2	9
TOTAL	58	48	45	151
PROMEDIO	3.87	3.20	3.00	

Fuente: Propias de los autores (2013).

Tabla 46: Análisis de varianza para el atributo olor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	6.178	3.089	4.678	3.218
PANELISTAS	14	13.644	0.975	1.476	
ERROR	28	18.489	0.6603		
TOTAL	44	38.311			

Fuente: Propias de los autores (2013)

Con esto se concluye que en relación al olor, con una dilución de 1:4 y según la escala hedónica aplicada, hubo diferencia significativa.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$
 $q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.6603/15}$$

$$\Delta = 0.7349$$

Tabla 47: Ordenamiento de medias para el olor.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	3.87	3.20	3.00
Clave	I	II	III

I – III	0.87> 0.7349	(Si Significativo)
I – II	0.67< 0.7649	(No Significativo)
II – III	0.20< 0.7649	(No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, el tratamiento I con el tratamiento II difiere entre sí, por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

Anexo 16: Resultados de la evaluación sensorial para el color.

Tabla 48: Resultados de la evaluación sensorial para el color.

	739	564	820	
Panelista/Muestra	D ₂ t ₁	D ₂ t ₂	D ₂ t ₃	TOTAL
1	4	3	3	10
2	4	1	3	8
3	3	3	3	9
4	2	3	3	8
5	3	4	5	12
6	5	4	4	13
7	5	4	5	14
8	4	4	4	12
9	4	4	4	12
10	4	4	4	12
11	4	4	4	12
12	3	3	3	9
13	4	3	2	9
14	4	2	3	9
15	5	4	2	11
TOTAL	58	50	52	160
PROMEDIO	3.87	3.33	3.47	

Fuente: propia de los autores (2013)

Tabla 49: Análisis de varianza para el atributo color.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	2.311	1.156	2.062	3.218
PANELISTAS	14	17.111	1.222	2.181	
ERROR	28	15.689	0.5603		
TOTAL	44	35.111			

Fuente: Propia de los autores (2013)

Con esto se concluye que en relación al color, según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$
 $q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.5603/15}$$

$$\Delta = 0.6770$$

Tabla 50: Ordenamiento de medias para el color.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	3.87	3.33	3.47
Clave	I	II	III

I – III	0.40< 0.6770	(No Significativo)
I – II	0.54< 0.6770	(No Significativo)
III – II	0.14<0.6770	(No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, los tratamientos no difieren entre sí por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

Anexo 17: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.

Tabla 51: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.

	428	672	295	
Panelista/Muestra	D ₂ t ₁	D ₂ t ₂	D ₂ t ₃	TOTAL
1	2	2	2	6
2	4	2	1	7
3	3	2	1	6
4	2	3	4	9
5	5	4	1	10
6	5	3	4	12
7	2	1	3	6
8	1	1	1	3
9	2	2	2	6
10	4	3	1	8
11	2	2	2	6
12	3	2	1	6
13	4	2	1	7
14	4	1	2	7
15	3	2	2	7
TOTAL	46	32	28	106
PROMEDIO	3.07	2.13	1.87	

Fuente: Propia de los autores (2013)

Tabla 52: Análisis de varianza para el atributo sabor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	11.911	5.956	6.392	3.218
PANELISTAS	14	20.311	1.451	1.557	
ERROR	28	26.089	0.9317		
TOTAL	44	58.311			

Fuente: Propia de los autores (2013)

Con esto se concluye que en relación al olor, con una dilución de 1:4 y según la escala hedónica aplicada, hubo diferencia significativa.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$
 $q (0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.9317/15}$$

$$\Delta = 0.8730$$

Tabla 53: Ordenamiento de medias para el sabor.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	3.07	2.13	1.87
Clave	I	II	III

I – III	1.20> 0.8730	(Si Significativo)
I – II	0.94> 0.8730	(Si Significativo)
II – III	0.26<0.8730	(No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, el tratamiento I con el tratamiento II y III difiere entre sí, por lo que para este atributo se pueden considerar significativo.

TERCERA EVALUACION: 1:5

Anexo 18: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.

Tabla 54: Resultados de la evaluación sensorial para el olor.

	499	523	748	
Panelista/Muestra	D ₃ t ₁	D ₃ t ₂	D ₃ t ₃	TOTAL
1	4	3	3	10
2	4	3	3	10
3	2	3	4	9
4	4	3	3	10
5	4	3	3	10
6	1	4	5	10
7	4	4	3	11
8	4	3	3	10
9	5	3	3	11
10	4	5	3	12
11	2	3	3	8
12	3	3	2	8
13	4	3	2	9
14	2	2	3	7
15	4	3	3	10
TOTAL	51	48	46	145
PROMEDIO	3.40	3.20	3.07	

Fuente: Propia de los autores (2013)

Tabla 55: Análisis de varianza para el atributo olor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	0.844	0.422	0.511	3.218
PANELISTAS	14	7.778	0.556	0.672	
ERROR	28	23.156	0.8270		
TOTAL	44	31.778			

Fuente: Propia de los autores (2013)

Con esto se concluye que en relación al olor, según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$

$q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.8270/15}$$

$$\Delta = 0.8225$$

Tabla 56: Ordenamiento de medias para el olor.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	3.40	3.20	3.07
Clave	I	II	III

I – III	0.33 < 0.8225 (No Significativo)
I – II	0.20 < 0.8225 (No Significativo)
II – III	0.13 < 0.8225 (No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, los tratamientos no difieren entre sí por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

Anexo 19: Resultados de la evaluación sensorial para el color.

Tabla 57: Resultados de la evaluación sensorial para el color.

	520	368	756	
Panelista/Muestra	D _{3t1}	D _{3t2}	D _{3t3}	TOTAL
1	3	4	5	12
2	3	3	4	10
3	4	4	4	12
4	2	4	2	8
5	3	4	3	10
6	1	4	5	10
7	4	4	3	11
8	2	4	5	11
9	5	5	4	14
10	3	4	5	12
11	2	3	4	9
12	3	2	3	8
13	3	3	2	8
14	4	3	3	10
15	4	2	3	9
TOTAL	46	53	55	154
PROMEDIO	3.07	3.5	3.67	

Fuente: Propia de los autores (2013)

Tabla 58: Análisis de varianza para el atributo color.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	2.978	1.489	1.623	3.218
PANELISTAS	14	14.311	1.022	1.114	
ERROR	28	25.689	0.9175		
TOTAL	44	42.978			

Fuente: Propia de los autores (2013)

Con esto se concluye que en relación al color, según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$

$q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$

$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.9175/15}$$

$$\Delta = 0.8664$$

Tabla 59: Ordenamiento de medias para el color.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	3.07	3.5	3.67
Clave	I	II	III

III – I

0.60 < 0.8664

(No Significativo)

III – II

0.17 < 0.8664

(No Significativo)

II – I

0.43 < 0.8664

(No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, los tratamientos no difieren entre sí por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

Anexo 20: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.

Tabla 60: Resultados de la evaluación sensorial para el sabor.

	625	532	762	
Panelista/Muestra	D ₃ t ₁	D ₃ t ₂	D ₃ t ₃	TOTAL
1	3	3	2	8
2	3	2	5	10
3	2	2	2	6
4	2	1	1	4
5	3	3	2	8
6	4	2	3	9
7	2	2	3	7
8	3	4	3	10
9	2	2	3	7
10	3	4	3	10
11	3	1	2	6
12	4	2	2	8
13	3	3	1	7
14	4	2	1	7
15	3	3	2	8
TOTAL	44	36	35	115
PROMEDIO	2.93	2.4	2.33	

Fuente: Propia de los autores (2013)

Tabla 61: Análisis de varianza para el atributo sabor.

	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTOS	2	3.244	1.622	2.188	3.218
PANELISTAS	14	13.111	0.937	1.263	
ERROR	28	20.756	0.7413		
TOTAL	44	37.111			

Fuente: Propia de los autores (2013)

Con esto se concluye que en relación al sabor, según la escala hedónica aplicada, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY:

$\alpha = 0.05$

$q(0.05; 3; 28) = 3.503$

$$\Delta = q \sqrt{CME/n}$$
$$\Delta = 3.503 \sqrt{0.7413/15}$$
$$\Delta = 0.7787$$

Tabla 62: Ordenamiento de medias para el sabor.

Tratamientos	T ₁	T ₂	T ₃
Promedios	2.93	2.4	2.33
Clave	I	II	III

I – III	0.60 < 0.7787 (No Significativo)
I – II	0.53 < 0.7787 (No Significativo)
II – III	0.07 < 0.7787 (No Significativo)

De acuerdo a esto se puede afirmar que al nivel del 5%, los tratamientos no difieren entre sí por lo que para este atributo se pueden considerar no significativo.

Anexo 21: Galería de fotos.

Figura 25: Molienda de las vainas de algarroba para obtener Harina.

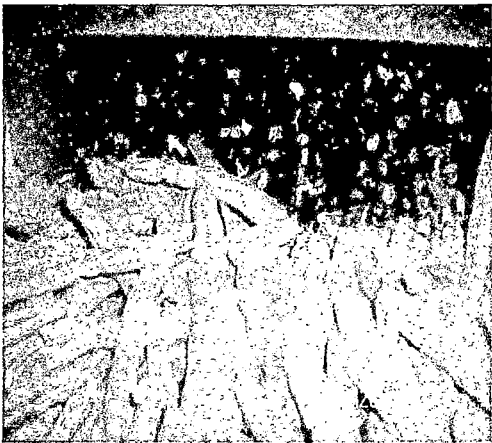


Figura 26: Tamizado de la Harina.

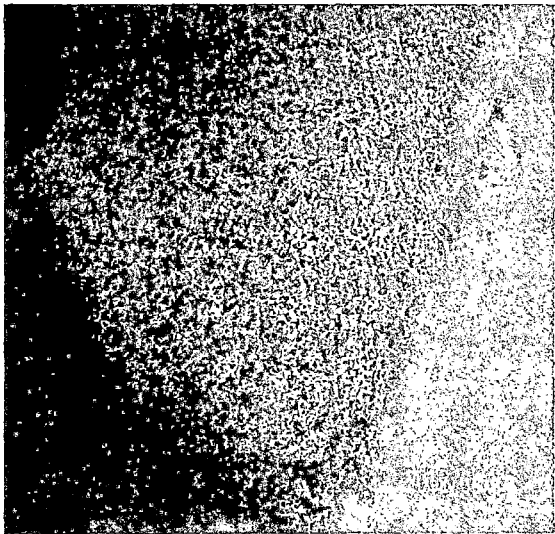
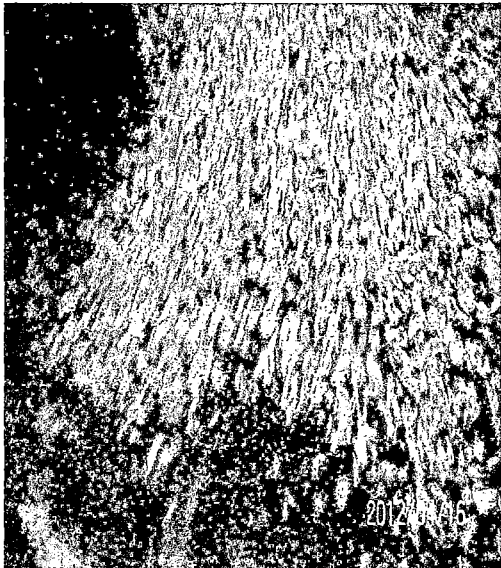


Figura 27: Dilución de la Harina para la extracción de la sacarosa.

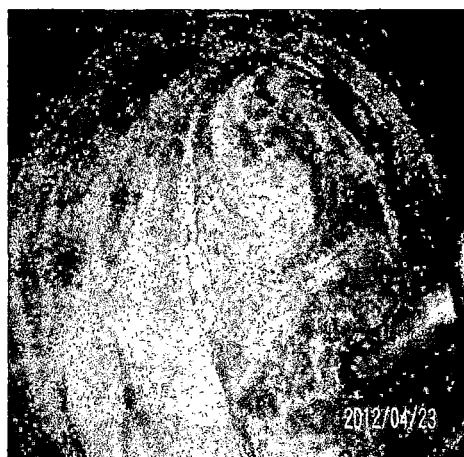


Figura 28: Filtración.



Figura 29: Fermentación:

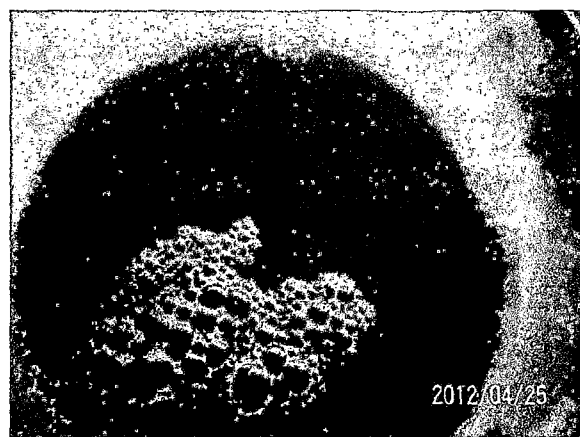
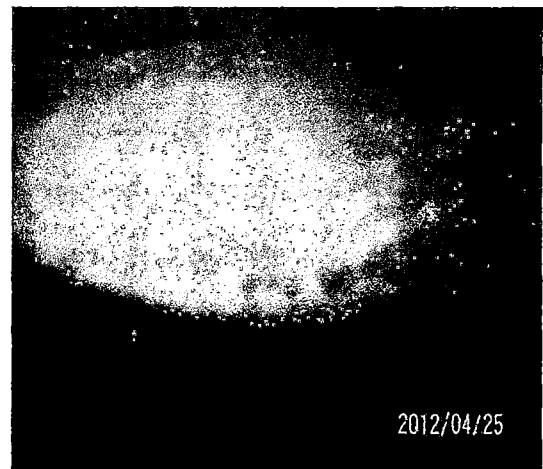
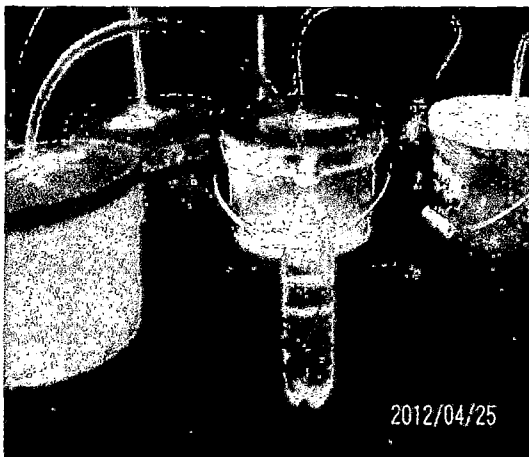


Figura 30: Determinación de Sólidos Solubles.



Figura 31: Determinación de pH.

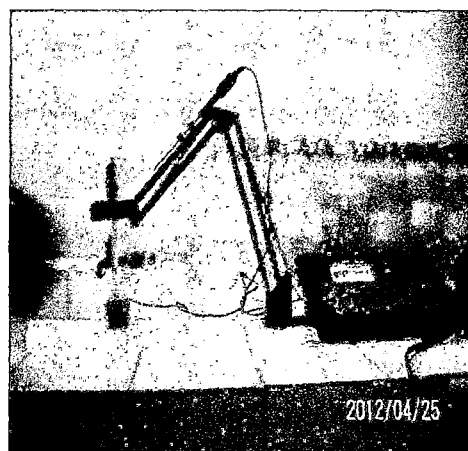


Figura 32: Determinación de densidad.

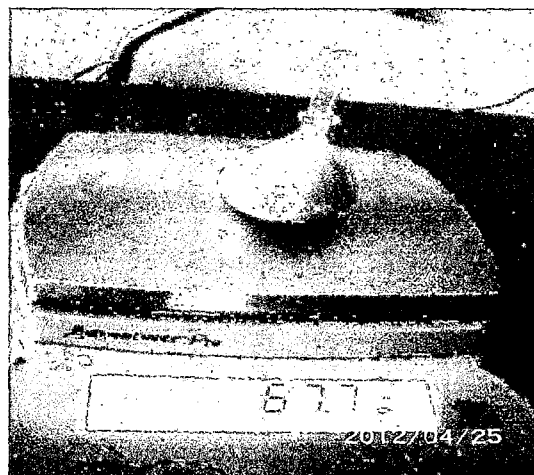
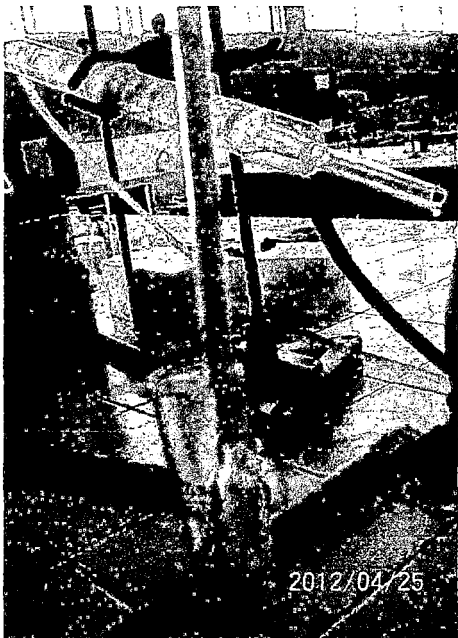
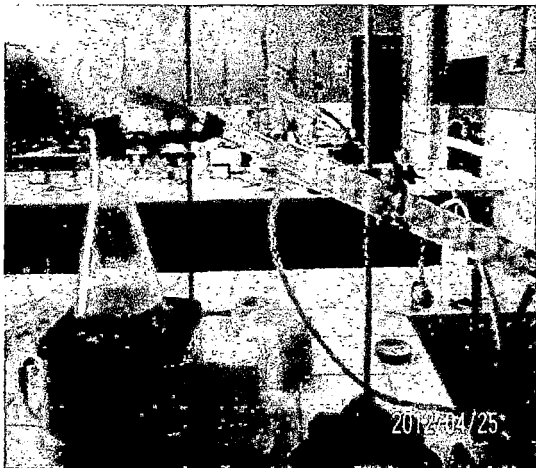
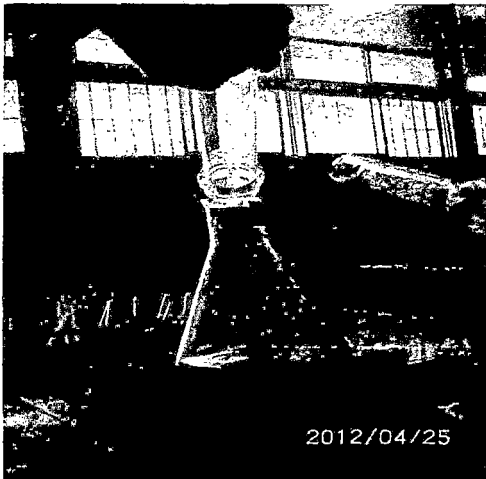


Figura 33: Determinación del Grado Alcohólico.



Anexo 22: Tabla estadística para nivel de significancia 0.05%.

Tabla 63: Tabla estadística F para 0.05

df2\df1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	22	24	26	28	30	35	40	45	50	60	70	80	100	200	500	1000	>1000	
3	10.3	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.78	8.74	8.73	8.71	8.7	8.69	8.68	8.67	8.67	8.66	8.65	8.64	8.63	8.62	8.62	8.6	8.59	8.58	8.58	8.57	8.57	8.56	8.55	8.54	8.53	8.53	8.54	
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.28	6.16	6.09	6.04	6	5.96	5.94	5.91	5.89	5.87	5.86	5.84	5.83	5.82	5.81	5.8	5.79	5.77	5.76	5.75	5.75	5.73	5.72	5.71	5.7	5.69	5.68	5.67	5.66	5.65	5.64	5.63	5.63	
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.89	4.82	4.77	4.74	4.7	4.66	4.66	4.64	4.62	4.6	4.59	4.58	4.57	4.56	4.54	4.53	4.52	4.5	4.5	4.48	4.46	4.45	4.44	4.43	4.42	4.42	4.41	4.39	4.37	4.37	4.36	
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.1	4.06	4.03	4	3.98	3.96	3.94	3.92	3.91	3.9	3.88	3.87	3.86	3.84	3.83	3.82	3.81	3.79	3.77	3.76	3.75	3.74	3.73	3.72	3.71	3.69	3.66	3.67	3.67	
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.6	3.57	3.55	3.53	3.51	3.49	3.48	3.47	3.46	3.44	3.43	3.41	3.4	3.39	3.38	3.36	3.34	3.33	3.32	3.3	3.29	3.28	3.27	3.25	3.24	3.23	3.23	
8	5.32	4.48	4.07	3.84	3.69	3.58	3.5	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.26	3.24	3.22	3.2	3.19	3.17	3.16	3.15	3.13	3.12	3.1	3.08	3.08	3.06	3.04	3.03	3.02	3.01	2.99	2.98	2.97	2.95	2.94	2.93	2.93	
9	5.12	4.28	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.1	3.07	3.05	3.03	3.01	2.99	2.97	2.96	2.95	2.94	2.92	2.9	2.89	2.87	2.86	2.84	2.83	2.81	2.8	2.79	2.78	2.77	2.76	2.73	2.72	2.71	2.71	
10	4.96	4.1	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94	2.91	2.89	2.86	2.85	2.83	2.81	2.8	2.79	2.77	2.75	2.74	2.72	2.71	2.7	2.68	2.66	2.65	2.64	2.62	2.61	2.6	2.59	2.56	2.55	2.54	2.54	
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.2	3.09	3.01	2.95	2.9	2.85	2.82	2.79	2.76	2.74	2.72	2.7	2.69	2.67	2.66	2.65	2.63	2.61	2.59	2.58	2.57	2.55	2.53	2.52	2.51	2.49	2.48	2.47	2.46	2.43	2.42	2.41	2.41	
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3	2.91	2.85	2.8	2.75	2.72	2.69	2.66	2.64	2.62	2.6	2.58	2.57	2.56	2.54	2.52	2.51	2.49	2.48	2.47	2.44	2.43	2.41	2.4	2.38	2.37	2.36	2.35	2.32	2.31	2.3	2.3	
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.63	2.6	2.58	2.55	2.53	2.51	2.5	2.48	2.47	2.46	2.44	2.42	2.41	2.39	2.38	2.36	2.34	2.33	2.31	2.3	2.28	2.27	2.26	2.23	2.22	2.21	2.21	
14	4.6	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.7	2.65	2.6	2.57	2.53	2.51	2.48	2.46	2.44	2.43	2.41	2.4	2.39	2.37	2.35	2.33	2.32	2.31	2.28	2.27	2.25	2.24	2.22	2.21	2.2	2.19	2.16	2.14	2.14	2.13	
15	4.54	3.68	3.28	3.06	2.9	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.51	2.48	2.45	2.42	2.4	2.38	2.37	2.35	2.34	2.33	2.31	2.29	2.27	2.26	2.25	2.22	2.2	2.19	2.18	2.16	2.15	2.14	2.12	2.1	2.08	2.07	2.07	
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.46	2.42	2.4	2.37	2.35	2.33	2.32	2.3	2.29	2.28	2.25	2.24	2.22	2.21	2.19	2.17	2.15	2.14	2.12	2.11	2.09	2.08	2.07	2.04	2.02	2.02	2.01	
17	4.45	3.59	3.2	2.98	2.81	2.7	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.38	2.35	2.33	2.31	2.29	2.27	2.26	2.24	2.23	2.21	2.19	2.17	2.16	2.15	2.12	2.1	2.09	2.08	2.06	2.05	2.03	2.02	1.99	1.97	1.97	1.96	
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.45	2.41	2.37	2.34	2.31	2.29	2.27	2.25	2.23	2.22	2.2	2.19	2.17	2.15	2.13	2.12	2.11	2.08	2.06	2.05	2.04	2.02	2	1.99	1.98	1.95	1.93	1.92	1.92	
19	4.38	3.52	3.13	2.9	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.34	2.31	2.28	2.26	2.23	2.21	2.2	2.18	2.17	2.16	2.13	2.11	2.1	2.08	2.07	2.05	2.03	2.01	2	1.98	1.97	1.96	1.94	1.91	1.89	1.88	1.88	
20	4.35	3.49	3.1	2.87	2.71	2.6	2.51	2.45	2.39	2.35	2.31	2.28	2.25	2.23	2.2	2.18	2.17	2.15	2.14	2.12	2.1	2.08	2.07	2.05	2.04	2.01	1.99	1.98	1.97	1.95	1.93	1.92	1.91	1.88	1.86	1.85	1.84	
22	4.3	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.4	2.34	2.3	2.26	2.23	2.2	2.17	2.15	2.13	2.11	2.1	2.08	2.07	2.05	2.03	2.01	2	1.98	1.96	1.94	1.92	1.91	1.89	1.88	1.86	1.85	1.82	1.8	1.79	1.78	
24	4.26	3.4	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.3	2.25	2.22	2.18	2.15	2.13	2.11	2.09	2.07	2.05	2.04	2.03	2	1.98	1.97	1.95	1.94	1.91	1.89	1.88	1.86	1.84	1.83	1.82	1.8	1.77	1.75	1.74	1.73	
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.12	2.09	2.07	2.05	2.03	2.02	2	1.98	1.97	1.95	1.93	1.91	1.9	1.87	1.85	1.84	1.82	1.8	1.79	1.78	1.76	1.73	1.71	1.7	1.69	
28	4.2	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.15	2.12	2.09	2.06	2.04	2.02	2	1.98	1.97	1.96	1.93	1.91	1.9	1.88	1.87	1.84	1.82	1.8	1.79	1.77	1.75	1.74	1.73	1.69	1.67	1.66	1.66	
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.13	2.09	2.06	2.04	2.01	1.99	1.98	1.96	1.95	1.93	1.91	1.89	1.87	1.85	1.84	1.81	1.79	1.77	1.76	1.74	1.72	1.71	1.7	1.66	1.64	1.63	1.62	
35	4.12	3.27	2.87	2.64	2.48	2.37	2.29	2.22	2.16	2.11	2.08	2.04	2.01	1.99	1.96	1.94	1.92	1.91	1.89	1.88	1.85	1.83	1.82	1.8	1.79	1.76	1.74	1.72	1.7	1.68	1.66	1.65	1.63	1.6	1.57	1.57	1.56	
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.04	2	1.97	1.95	1.92	1.9	1.89	1.87	1.85	1.84	1.81	1.78	1.77	1.76	1.74	1.72	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	1.61	1.59	1.55	1.53	1.52	1.51	
45	4.06	3.2	2.81	2.58	2.42	2.31	2.22	2.15	2.1	2.05	2.01	1.97	1.94	1.92	1.89	1.87	1.85	1.84	1.82	1.81	1.78	1.76	1.74	1.73	1.71	1.69	1.66	1.64	1.63	1.6	1.59	1.57	1.55	1.51	1.49	1.48	1.47	
50	4.03	3.18	2.79	2.56	2.4	2.29	2.2	2.13	2.07	2.03	1.99	1.95	1.92	1.89	1.87	1.85	1.83	1.81	1.8	1.78	1.76	1.74	1.72	1.7	1.69	1.66	1.63	1.61	1.6	1.58	1.56	1.54	1.52	1.48	1.46	1.45	1.44	
60	4	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.1	2.04	1.99	1.95	1.92	1.89	1.88	1.84	1.82	1.8	1.78	1.76	1.75	1.72	1.7	1.68	1.66	1.65	1.62	1.59	1.57	1.56	1.53	1.52	1.5	1.48	1.44	1.41	1.4	1.39	
70	3.98	3.13	2.74	2.5	2.35	2.23	2.14	2.07	2.02	1.97	1.93	1.89	1.86	1.84	1.81	1.78	1.77	1.75	1.74	1.72	1.7	1.67	1.65	1.64	1.62	1.59	1.57	1.55	1.53	1.5	1.49	1.47	1.45	1.4	1.37	1.36	1.35	
80	3.96	3.11	2.72	2.49	2.33	2.21	2.13	2.06	2	1.95	1.91	1.88	1.84	1.82	1.79	1.77	1.75	1.73	1.72	1.7	1.68	1.65	1.63	1.62	1.6	1.57	1.54	1.52	1.51	1.48	1.46	1.45	1.43	1.38	1.35	1.34	1.33	
100	3.94	3.09	2.7	2.46	2.31	2.19	2.1	2.03	1.97	1.93	1.89	1.85	1.82	1.79	1.77	1.75	1.73	1.71	1.69	1.68	1.65	1.63	1.61	1.59	1.57	1.54	1.52	1.49	1.48	1.45	1.43	1.41	1.39	1.34	1.31	1.3	1.28	
200	3.89	3.04	2.65	2.42	2.26	2.14	2.06	1.98	1.93	1.89	1.84	1.8	1.77	1.74	1.72	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	1.6	1.57	1.55	1.53	1.52	1.48	1.46	1.44	1.43	1.41	1.39	1.36	1.35	1.32	1.26	1.22	1.21	1.19
500	3.86	3.01	2.62	2.39	2.23	2.12	2.03	1.96	1.9	1.85	1.81	1.77	1.74	1.71	1.68	1.66	1.64	1.62	1.61	1.59	1.58	1.54	1.52	1.5	1.48	1.45	1.42	1.4	1.38	1.35	1.32	1.3	1.28	1.21	1.16	1.14	1.12	
1000	3.85	3	2.61	2.38	2.22	2.11	2.02	1.95	1.89	1.84	1.8	1.76	1.73	1.7	1.68	1.65	1.63	1.61	1.6	1.58	1.55	1.53	1.51	1.49	1.47	1.43	1.41	1.38	1.36	1.33	1.31	1.29	1.26	1.19	1.13	1.11	1.08	
>1000	1.04	3	2.61	2.37	2.21	2.1	2.01	1.94	1.88	1.83	1.79	1.75	1.72	1.69	1.67	1.64	1.62	1.61	1.59	1.57	1.54	1.52	1.5	1.48	1.46	1.42	1.4	1.37	1.35	1.32	1.3	1.28	1.25	1.17	1.11	1.08	1.03	
df2\df1	1	2	3																																			

BD Bactrol™ Plus

Individually Lyophilized Quality Control Organisms

Now there's a better choice than quality control cultures on disks—BD Bactrol™ Plus Quality Control Cultures are individually lyophilized quality control organisms that offer many advantages over disks:

- Easy to use—simply reconstitute and plate
- Large selection of ATCC™ derived organisms
- User-friendly format simplifies storage and handling
- Individually lyophilized in vials—no forceps, transfer tubes or pre-incubation required

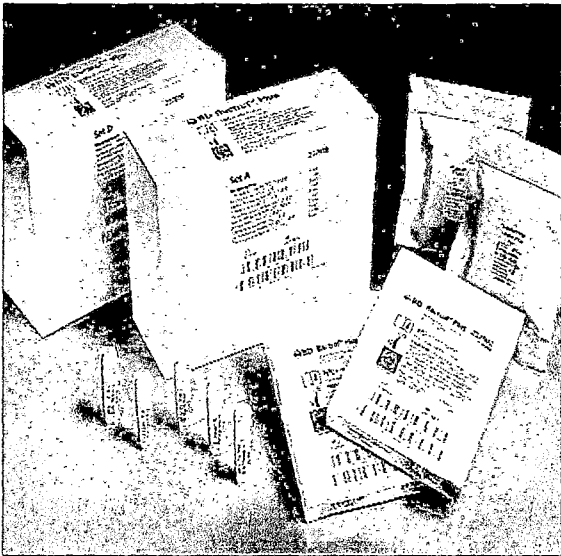
Nationally Recognized Cultures

Cultures contained in the BD Bactrol Plus vials are derived from nationally recognized culture collections, such as the American Type Culture Collection (ATCC™). Many accrediting organizations require the use of quality control organisms as part of a laboratory quality assurance/quality control program.

To Reconstitute

- *Aerobic bacteria and fungi:*
Rehydrate with 0.25 mL of Trypticase™ Soy Broth, saline or distilled/deionized water.
- *Anaerobic and microaerophilic bacteria:*
Rehydrate with 0.25 mL of Thioglycollate Broth.

The resulting suspension is immediately ready for inoculation onto plated media.



Ordering Information		
Bactrol™ Disks Cat. Number	NEW Bactrol™ Plus Quality Control Cultures Cat. Number	Product Description
216281	237916	Bactrol Plus Set A
216291	237917	Bactrol Plus Set B
216401	237920	Bactrol Plus MIC Set
216561	237918	Bactrol Plus Set C
216601	237919	Bactrol Plus Set D
		Bactrol™ Plus Quality Control Cultures*
216371	237914	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
261381	237908	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228
261391	237912	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
216421	237915	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213
216441	237907	<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028
216451	237910	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615
216461	237911	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
216471	237905	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883
216481	237906	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
216491	237913	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
216521	237904	<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048
216651	237902	<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 35056
216661	237909	<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813
216711	237922	<i>Candida albicans</i> ATCC 14053
216741	237901	<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124
216781	237900	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285
216791	237903	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43070
n/a	237921	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305

*Additional cultures to be introduced.